

Annales
de
zoologie
écologie animale

inra

AZEA3.2

INSTITUT NATIONAL DE LA RECHERCHE AGRONOMIQUE

149, rue de Grenelle, PARIS-VII^e. Tél. : INV-41-09.

Directeur général : J. BUSTARRET

Inspecteurs généraux : A. CAUDERON, G. DROUINEAU, R. FÉVRIER, P. MORNET, R. PÉRO

Rédaction des Annales

Pour l'ensemble des Séries : J. BUSTARRET

Annales agronomiques.

- M. HALLAIRE, Chef du Département de Bioclimatologie.
- S. HÉNIN, Chef du Département d'Agronomie.

Annales de l'Amélioration des Plantes.

- R. MAYER, Chef du Département de Génétique et d'Amélioration des Plantes.

Annales de Phytopathologie.

- H. DARPOUX, Chef du Département de Pathologie végétale.

Annales de Zoologie - Écologie animale.

- E. BILIOTTI, Chef du Département de Zoologie.

Annales de Zootechnie.

- R. FÉVRIER, Inspecteur général de la Recherche agronomique.
- A.-M. LEROY, Professeur honoraire à l'Institut national agronomique.
- A. RÉRAT, Directeur de la Station de Recherches sur l'Élevage des Porcs, C. N. R. Z.

Annales de Technologie agricole.

- P. DUPUY, Directeur de la Station de Technologie des Produits végétaux, Centre de Recherches de Dijon, 7, rue Sully.
- A. GUILBOT, Directeur de la Station de Biochimie et Physico-Chimie des Céréales et de leurs Dérivés, C. E. R. D. I. A., Le Noyer-Lambert, 91 - Massy.
- G. MOCQUOT, Chef du Département de Technologie des Produits animaux.

Annales de Biologie animale, Biochimie, Biophysique.

- A. FRANÇOIS, Chef du Département de Recherches de Nutrition.
- C. THIBAULT, Chef du Département de Physiologie animale.

Annales des Sciences forestières.

- P. BOUVAREL, Directeur de la Station d'Amélioration des Arbres forestiers, C. N. R. F.
- J.-P. CHESNEAU, École nationale du Génie rural, des Eaux et des Forêts, 54 - Nancy.
- J. PARDÉ, Directeur de la Station de Sylviculture et de Production, C. N. R. F.

Annales de Génétique et de Sélection animale.

- J. POLY, Chef du Département de Génétique animale.

Apidologie (Revue franco-allemande, co-édition I. N. R. A.-Deutscher Imkerbund).

- J. LOUVEAUX, Directeur de la Station de Recherches sur l'Abeille et les Insectes sociaux, 91 - Bures-sur-Yvette.

Annales de Recherches vétérinaires.

- P. MORNET, Inspecteur général de la Recherche agronomique.

Annales d'Hydrobiologie.

- R. FÉVRIER, Inspecteur général de la Recherche agronomique.
- C. THIBAULT, Chef du Département de Physiologie animale.
- R. VIBERT, Directeur de la Station d'Hydrobiologie continentale, 64 - Biarritz.

Recherches d'Économie et de Sociologie rurales.

- D. BERGMANN, Chef du Département d'Économie et de Sociologie rurales.

ADMINISTRATION ET SECRÉTARIAT DE LA RÉDACTION :

Service des Publications de l'I. N. R. A., route de Saint-Cyr, 78 - VERSAILLES, Tél. : 950-75-22

ANNALES DE ZOOLOGIE-ECOLOGIE ANIMALE

VOL. 3 N°. 2 1971

Nom de l'emprunteur

Emprunté le

remis le

annales
de
zoologie
écologie animale

TRIMESTRIEL

1971

VOL.3 N°2

INSTITUT NATIONAL DE LA RECHERCHE AGRONOMIQUE

Reproduction, même partielle, interdite sans autorisation des auteurs
et de l'Institut national de la Recherche agronomique
à l'exception des résumés

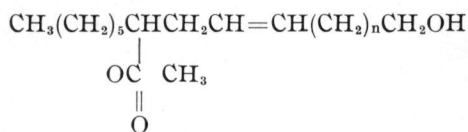
ERRATUM

L'ATTRACTION SEXUELLE CHEZ LES INSECTES :
DONNÉES BIOLOGIQUES GÉNÉRALES ET POSSIBILITÉS
D'APPLICATION DES PHÉROMONES SEXUELLES

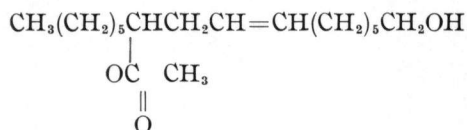
R. RAHN

*Laboratoire de Recherches de la Chaire de Zoologie,
École nationale supérieure agronomique,
Centre de Recherches de Rennes
Institut national de la Recherche agronomique*

P. 436, dernière ligne, remplacer :



par :



(Formule de JACOBSON *et al.*, 1960)

DISTRIBUTION DES PRINCIPALES CICADELLES DES PRAIRIES AUX ANTILLES FRANÇAISES (*HOMOPTERA*)

J. BONFILS et A. DELPLANQUE

*Laboratoire de Recherches de la Chaire de Zoologie,
École nationale supérieure agronomique,
Centre de Recherches, I. N. R. A.,
34 - Montpellier*

*Station de Recherches de Zoologie et de Lutte biologique,
Centre de Recherches agronomiques des Antilles-Guyane, I. N. R. A.,
Petit-Bourg (Guadeloupe)*

RÉSUMÉ

La faune entomologique des prairies naturelles et artificielles aux Antilles françaises est encore très peu connue. Une première investigation a été effectuée dans le groupe des Cicadelles (*Homoptera*).

Parmi les Fulgoroides ont été récoltés : des Delphacides (7 genres), des Cixiides (3 genres), des Flatides (1 genre) ; dans les Cicadellides, six sous-familles signalées parmi lesquelles les *Deltocephalinae* qui comptent le plus grand nombre de représentants.

Un catalogue des espèces des plus caractéristiques de la faune prairiale est donné, avec des indications sur les localités de récolte, l'abondance et la biologie des espèces.

Quelques-unes des espèces citées sont agents vecteurs de maladies des plantes cultivées ; leur importance économique est à considérer pour les îles.

Aux Antilles françaises, la plupart des pâturages sont en réalité des prairies naturelles. Toutefois depuis un petit nombre d'années, les prairies artificielles se sont développées. Elles n'occupent encore qu'une surface très réduite, dans la zone des cultures de Canne à sucre, de Banane ou d'Ananas, tant en Guadeloupe qu'en Martinique.

Les prairies artificielles sont actuellement toutes à base d'une Graminée introduite, *Digitaria decumbens* STENT. (pangola).

Les végétaux qui dominent dans la composition des prairies naturelles appartiennent aux familles des Graminées et des Légumineuses.

Ces végétaux sont les hôtes de nombreux insectes phytophages. Parmi les grands groupes systématiques représentés dans ces populations d'insectes, nous

entreprenons l'étude qualitative des Cicadelles (*Homoptera*), en raison de l'importance économique présentée par certaines espèces (transmission de maladies à virus et à mycoplasmes).

Étant donné le peu de données antérieures concernant la faune entomologique de ce groupe pour les Antilles françaises, la majeure partie des références utilisées concerne des observations effectuées dans les îles voisines et les territoires continentaux de la région caraïbe.

La classification adoptée dans cette étude est celle du *General Catalogue of Homoptera* de METCALF.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Les prélèvements ont débuté pendant l'année 1965. Les recherches se sont intensifiées à partir de 1967. A cette époque l'un de nous (A. DELPLANQUE) utilisait simultanément les méthodes de capture au filet-fauchoir, au piège lumineux et aux pièges colorés, en vue d'une étude quantitative des principaux genres.

LE GROUPE DES CICADELLES

Les formes observées dans les herbages appartiennent soit à la superfamille des *Fulgoroidea* soit à la famille des *Cicadellidae*.

Fulgoroidea: ils sont représentés principalement par les *Delphacidae*, dans les genres *Anchidelphax* FENNAH, *Caenodelphax* FENNAH, *Delphacodes* FIEBER, *Euidella* PUTON, *Saccharosydne* KIRKALDY, *Sogatella* FENNAH, *Sogatodes* FENNAH ; également par des *Cixiidae*, avec des espèces des genres *Bothriocera* BURMEISTER, *Oliarus* STAL, *Pintalia* STAL ; par des *Flatidae* du genre *Antillormenis* FENNAH.

Cicadellidae: Les sous-familles *Agalliinae*, *Cicadellinae*, *Deltocephalinae*, *Hecalininae*, *Ledrinae*, *Xestocephalinae* ont des formes vivant dans les herbages. Le plus grand nombre d'entre elles appartiennent aux *Deltocephalinae* (*Euscelinae* de METCALF). Les genres les plus fréquemment observés sont les suivants : *Chlorotettix* VAN DUZEE, *Cicadulina* CHINA, *Deltocephalus* BURMEISTER, *Exitianus* BALL, *Graminella* DE LONG, *Laevicephalus* DE LONG, *Nesosteles* KIRKALDY, *Stirellus* OSBORN et BALL ; parmi les *Typhlocybinae* des espèces des genres *Empoasca* WALSH, *Protalembra* YOUNG, *Typhlocybella* BAKER. Parmi les *Cicadellinae* deux espèces sont dominantes tant en Guadeloupe qu'en Martinique : *Carneocephala sagittifera* (UHLER) et *Hortensia similis* (WALKER) très communes partout jusqu'à l'altitude supérieure de 500 m qui paraît limitante. Moins fréquentes sont les espèces *Tylozygus fasciatus* (WALKER), *Sibovia occatoria* SAY. Dans les herbages en altitude d'autres espèces se rencontrent : *Cicadella prolixa* (LETHIERRY), *Poeciloscarta guadulpiensis* (LETHIERRY).

La présence de certaines formes normalement inféodées à des essences non herbacées doit être signalée ; il en est parfois ainsi de l'espèce *Dikrella* (*Readionia*) *cedrelae* (OMAN), dont l'hôte normal est l'arbre *Cedrela odorata*. L'espèce pullule régulièrement de janvier à avril sur les arbres plantés le long des routes en Guadeloupe (Sainte-Rose, Petit-Bourg, Capesterre) et peut être récoltée dans les herbages proches

Fulgoroidea — Famille Cixiidae

Bothriocera eborea FENNAH, *Psyche* 50, p. 14, 17, 1943.

Distribution. — Espèce décrite des Petites Antilles, Jost Van Dyke et Tortola ; elle a été récoltée sur *Cocoloba uvifera*. Nous rapporterons à cette espèce une forme des Antilles françaises récoltée dans les stations suivantes : *Martinique* : Vert-Pré, Littée, 18 sept. 1969, sur *Panicum purpurascens* REDDI (Herbe de Para). — *Guadeloupe* : Petit-Bourg, Duclos, 28-X-67. — Le Carbet, 20-V-69. — Matouba, 19-X-70-Moscou, 19-IX-68.

Oliarus complexus BALL.

Distribution. — Espèce connue des Grandes Antilles, Haïti, Porto Rico, Vieques, Caja de Muertos, Saint-Thomas, dans les Iles Vierges.

Aux Antilles françaises, elle a été récoltée dans les stations suivantes : *Guadeloupe* : Le Moule, IX, XI, prairies humides ; Petit-Bourg, Duclos, IX, prairies ; Trois-Rivières, Grande-Anse, IV, prairie littorale ; Bouillante, Crête de Village (400 m), X, herbages. — *Martinique* : Schoelcher, Desmarche, VIII, prairie. — Espèce toujours assez rare dans chaque station citée.

Biologie. — A Porto Rico, c'est une espèce polyphage, vivant notamment sur diverses Graminées, sur Aubergine, *Cajanus indicus*, feuillage du Papayer (CALDWELL et MARTORELL, 1952). Dans les Iles au Vent, l'espèce *O. maidis* FENNAH, vit sur différentes Graminées gazonnantes, ainsi que sur Canne à sucre, Maïs ; cette espèce existe également à Trinidad (FENNAH, 1947).

Pintalia alta OSBORN.

Distribution. — Porto Rico ; Iles Vierges, Saint-Thomas. Aux Antilles françaises, elle a été récoltée dans les stations suivantes : *Guadeloupe* : Sofaia, friches, 1-X-68 ; Moscou, 27-X-70 ; Le Carbet, lisière de forêt, 20-V-70. — Petit-Bourg, Duclos, piège lumineux, 1-VIII-70 ; Trois-Rivières, La Madeleine, 7-VII-60. Espèce toujours rare dans ces stations.

A Porto Rico, elle vit dans les herbes et buissons entre 500 et 900 m.

Famille Delphacidae

Saccharosydne saccharivora WESTWOOD.

Distribution. — Néotropicale, dans les Grandes et les Petites Antilles, à Cuba, Jamaïque, Haïti, Porto Rico, Vieques, Sainte-Lucie, Barbade, Grenade, Trinidad, Venezuela ; également dans le sud des États-Unis (Floride, Georgie) ; signalé aux Iles Hawaïi.

Aux Antilles françaises, l'espèce a été récoltée dans les stations suivantes : *Guadeloupe* : Le Moule, Deux-Mares, XI, herbages ; Canne à sucre. — Saint-François, 7-XI-69, pangola. Gardel, I, II, III, friches ; Canne à sucre. — Petit-Bourg, Duclos, IV, herbages. *Martinique* : Morne-Vert, 21-V-69, pangola. *Marie-Galante* : Vidon, 30-X-69, pangola.

Biologie. — A Porto Rico, l'espèce vit sur diverses Graminées dont *Andropogon bicornis* qui est considérée comme plante hôte par CALDWELL et MARTORELL, 1952 ; c'est également un ravageur de la Canne à sucre.

Elle est parasité par un Strepsiptère, *Stenocranophilus quadratus* PIERCE, en Guadeloupe (dét. ABDUL-NOUR, 1970).

Peregrinus maidis (ASHMEAD). Type : Floride.

Distribution. — Dans un grand nombre de pays tropicaux, sur tous les continents. — Iles du Pacifique ; Grandes et Petites Antilles, Cuba, Jamaïque, Haïti, Porto Rico, Iles Vierges, Saint-Kitts, Nevis, Antigue, Dominique, Sainte-Lucie, Saint-Vincent, Grenade, Trinidad, Barbade.

Aux Antilles françaises, l'espèce a été trouvée dans les stations suivantes : *Guadeloupe* : Petit-Bourg, Duclos, X, prairie naturelle. — Sainte-Rose, XI, prairie inondée. — Petit-Canal, Bazin, II, jachères ; herbes. *Martinique* : Saint-Pierre, XI, maïs.

Biologie. — Vit sur différentes plantes cultivées, Maïs, Aubergine, herbes et Graminées prairiales, *Panicum purpurascens* (CALDWELL et MARTORELL, 1952).

Euidella weedi (VAN DUZEE). Type : Mississippi.

Distribution. — États du sud des États-Unis ; Mexique, Grandes Antilles, Cuba, Porto Rico.

Aux Antilles françaises, l'espèce a été récoltée dans les stations suivantes, où elle est abondante : *Guadeloupe* : Le Moule, Les Deux-Mares, XI, herbages humides du littoral. — Piton de Sainte-Rose (300 m), VII, VIII, friches herbeuses.

Biologie. — En Guadeloupe, l'espèce est parasitée par un Dryinide (indéterminé). Notons encore qu'une espèce de ce genre, proche ou à rapporter à *E. altamazonica* MUIR, 1926, décrite de l'Équateur, a été récoltée au piège lumineux dans la station suivante : *Guadeloupe* : Le Carbet, lisière de forêt, V-1969, 1 ♂.

Nilaparvata muii CALDWELL. Type : Porto Rico.

Distribution. — Porto Rico.

Aux Antilles françaises, une forme rapportée à cette espèce, dans la station suivante : *Guadeloupe* : Le Carbet, lisière de forêt, V-1969, au piège lumineux, 1 ♂, 1 ♀.

Sogatella kolophon meridiana (BEAMER).

Distribution. — Néotropical ; Amérique Centrale et Amérique du Sud ; vaste répartition dans les Grandes et Petites Antilles.

Aux Antilles françaises, récolté en particulier dans les stations suivantes : *Marie-Galante* : Vidon, IX, pangola ; prairie. *Guadeloupe* : Sainte-Marguerite, III, pangola ; pacages. Le Moule, Gardel, XI, prairie inondée. — Petit-Bourg, Duclos, XII, pangola ; prairies naturelles. *Martinique* : Le Marin, III, XI, pangola ; Herbe de Para. — Saint-Pierre, I, pangola. — Morne-Vert, XI, pangola. — Vert-Pré, XI, pangola ; Herbe de Para. — Saint-Joseph, Deux-Choux, VII, herbages.

Biologie. — L'espèce a été confondue avec *Sogata furcifera* (HORVATH). C'est le Fulgoride le plus commun des herbages aux Antilles françaises. Il y est capturé en toutes saisons, mais paraît surtout abondant pendant la période pluvieuse. Parasité par *Cyrtogonatopus* sp. (dét. O. W. RICHARDS, ap. ABDUL-NOUR, 1970) et des Strepsiptères du genre *Elenchus*, probablement *E. tenuicornis* KIRBY, en Guadeloupe et en Martinique.

C'est l'agent vecteur de la virose du rabougrissement du pangola en Amérique du Sud (DIRVEN et VAN HOOF, 1960 ; BISESSAR, 1966).

Sogatodes approximatus (CRAWFORD).

Distribution. — Porto Rico.

Aux Antilles françaises, récolté dans les stations suivantes : *Guadeloupe* : Le Moule, les Deux-Mares, XI, herbages, 1 ♂, 1 ♀. *Martinique* : Vert-Pré, 18-XI-1969, sur pangola.

Sogatodes cubanus (CRAWFORD). Type : Cuba.

Distribution. — États-Unis, New Jersey ; Antilles, Cuba, Porto Rico, Sainte-Lucie ; Venezuela ; Nigeria.

Aux Antilles françaises, récolté dans les stations suivantes : *Guadeloupe* : Saint François, Courcelle, I, II, III, herbages, Canne à sucre. — Le Moule, XI, prairie de bas-fond humide. — Gardel, XI, prairie humide. — La Baie, X, prairie humide. — Petit-Bourg, Duclos, XI, pangola. *Martinique* : Vert-Pré, XI, pangola.

Trouvé en abondance, surtout dans les stations littorales humides. Une forme apparentée à *Sogatodes molinus* FENNAH, 1963, et probablement nouvelle, a été récoltée en Martinique sur *Panicum purpurascens*, dans des stations humides. *S. cubanus* vit sur différentes Graminées, parmi lesquelles le Riz, *Echinochloa* spp. ; c'est un vecteur du virus de la maladie du riz « Hoja blanca ».

Delphacodes albinotata (CRAWFORD). Type : Mexico.

Distribution. — Mexique, Grandes et Petites Antilles, Porto Rico, Vieques, Dominique.

Aux Antilles françaises, se trouve dans les stations suivantes, où elle est peu abondante : *Guadeloupe* : Sofaia (300 m), 17-XII-1969, friches, au piège lumineux. — Les Abymes, VIII-1966, sur patate douce cultivée. — Piton de Sainte-Rose, XII, herbages.

Biologie. — A Porto Rico, vit sur *Manihot utilissima*, sur herbages, gazons et buissons du littoral (CALDWELL et MARTORELL, 1952).

Anchidelphax havanensis (CRAWFORD). Type : Martinique.

Distribution. — Grandes et Petites Antilles, Cuba, Jamaïque, Porto Rico, Martinique, Sainte-Lucie, Barbade.

Aux Antilles françaises, dans les stations suivantes : *Guadeloupe* : Saint-François, VIII, IX, prairies, pangola. *Martinique* : Fond Lahaye, XI, prairie, pangola.

Delphacodes humilis (VAN DUZEE). Type : Jamaica.

Delphacodes nigripennis MUIR, *Proc. Hawaii. Ent. Soc.*, 3, p. 427, 1918, Guadeloupe.

Distribution. — Néotropical, Floride, Mexico, Amérique Centrale, Nicaragua, Équateur, Amérique du Sud, Guyanes, Brésil, Argentine, Grandes et Petites Antilles, Jamaïque, Porto Rico, Montserrat, Guadeloupe.

Nous l'avons récolté dans les stations suivantes : *Guadeloupe* : Petit-Bourg, Duclos, X, pangola. — Sainte-Rose, XII, friche herbeuse. — Saint-Claude, Parnasse, IV, herbes. En général disséminé et peu abondant.

Delphacodes nigrifacies MUIR. Type : Martinique.

Distribution. — Costa Rica ; Guyane ; Venezuela. — Petites Antilles, Montserrat, Dominique, Martinique, Sainte-Lucie, Saint-Vincent (FENNAH, 1959).

Aux Antilles françaises, l'espèce a été récoltée dans les stations suivantes : *Martinique* : Saint-Pierre, I, pangola. — Morne-Vert, XI, pangola. — Schoelcher, Desmarches, XII, prairie. *Guadeloupe* : Petit-Bourg, Duclos, X, pangola. — Piton de Sainte-Rose (300 m), XII, friches herbeuses. Récolté toujours en petit nombre.

Delphacodes propinqua FIEBER.

Distribution. — Circumtropical, très largement répandu sur tous les continents. Dans les Grandes et les Petites Antilles, Cuba, Jamaïque, Porto Rico, Montserrat, Dominique, Sainte-Lucie, Saint-Vincent, Grenade, Trinidad, mais non encore signalé dans les Antilles françaises. Nous l'avons récolté dans les stations suivantes : *Guadeloupe* : Saint-François, III, VI, pangola. — Le Moule, XI, prairie semi-marécageuse. — Petit-Bourg, Duclos, X, prairie clairière en forêt. — Trois-Rivières, Grande-Anse, IV, prairie littorale. *Marie-Galante* : Vidon, IX, pangola, prairie. *Martinique* : Le Marin, XI, pangola. Rare ou peu abondant suivant les stations.

Caenodelphax teapae (FOWLER). Type : Mexico.

Distribution. — Néotropical ; sud des États-Unis ; Amérique centrale ; Amérique du Sud, Guyanes, Brésil ; Grandes et Petites Antilles, Cuba, Jamaïque, Porto Rico, Montserrat, Dominica, Sainte-Lucie, Saint-Vincent, Barbade, Trinidad. Non encore signalé dans les Antilles françaises, nous l'avons récolté dans les stations suivantes : *Guadeloupe* : Petit-Bourg, Duclos, X, pangola. — Sofaia, XII, herbages. — Piton de Sainte-Rose (300 m), XII, friches herbeuses. — Cluny, VIII, prairie littorale humide. *Martinique* : Vert-Pré, pangola. — Parnasse, XI, pangola. — Morne-Vert, XI, pangola.

Famille Flatidae

Antillormenis albicostalis (FENNAH). Type : Montserrat.

Distribution. — Connu de Montserrat.

Aux Antilles françaises, l'espèce a été récoltée dans les stations suivantes : *Guadeloupe* : Saint-François, pangola ; lisière de bois, sur « bois chandelle » (*Amyris elemifera* L.). — Gardel, prairie. — Le Moule, la Baie, prairies. — *Saint-Martin* : pâturages naturels.

L'espèce est assez fréquente en Grande-Terre dans les prairies bordées de maquis ou de bosquets.

Famille Cicadellidae

Agallia albidula UHLER. Type : Saint-Vincent.

Distribution. — Les plus récentes répartitions (METCALF, 1966 ; NIELSON, 1968) indiquent Grandes et Petites Antilles, Amérique du Sud et sud-est des États-Unis ; du nord au sud, l'espèce est connue de Floride, Bahamas, Cuba, Jamaïque, Hispaniola, Porto Rico, Saint-Vincent, Saint-Thomas, Trinidad, Brésil, Argentine, Bolivie. Nous avons récolté l'espèce en Dominique et aux Antilles françaises, où, dans les stations indiquées elle est peu abondante : *Guadeloupe* : Vieux-Habitants, IX, pacage

littoral. — Sainte-Rose, Cluny, VIII, prairie marécageuse. *Martinique*: Le Prêcheur, Fond La Mare, VII, prairie. — Fond Lahaye, XI, prairie ; pangola. — Schoelcher, Desmarches, VII, prairie. — Le Lorrain, XII, pacage littoral.

Biologie. — Vit sur différents hôtes herbacés aux Antilles, *Chrysanthemum*, *Helianthus*, *Solanum torvum*, Canne à sucre, Haricot, Melon, Pomme de terre, *Asparagus* (FENNAH, 1947) ; sur Aubergine, dans les herbages à Porto Rico (CALDWELL et MARTORELL, 1952). C'est un agent vecteur d'une virose « Brazilian curly top virus » de la Tomate au Brésil (SAUER, 1946, in NIELSON, 1968), qui a une grande importance économique en Amérique du Sud. Par contre, son importance est faible aux Antilles (FENNAH, 1947) ; la virose de la Tomate à Porto Rico n'est pas transmise par *A. albidula* (ADSUAR, 1955).

Xerophloea viridis (FABRICIUS). Type : America.

Distribution. — Régions néarctique et néotropicale, États-Unis, Mexique, Panama, Amérique du Sud, Venezuela, Argentine, Brésil, Chili, Bolivie, Uruguay ; Antilles, Cuba, Haïti, Porto Rico, Saint-Vincent, Grenade, Jamaïque, Barbade.

Aux Antilles françaises, l'espèce a été récoltée dans les stations suivantes, où elle paraît rare : *Désirade*: Grande Anse, V, prairie littorale. *Martinique*: Fond Lahaye, XI, pangola ; prairie.

Biologie. — A Porto Rico, l'espèce a été trouvée sur différentes Graminées et plantes basses des pâtures (CALDWELL et MARTORELL, 1952).

Spangbergiella vulnerata (UHLER).

D'après CALDWELL et MARTORELL, (1952), cette espèce est représentée à Porto Rico par la variété *convexa* LAWSON 1932.

Distribution. — États-Unis, Texas, Floride ; Antilles, Porto Rico, Iles Vierges, Saint-Thomas, Vieques.

Aux Antilles françaises, l'espèce a été trouvée dans les stations suivantes où elle paraît rare : *Guadeloupe*: Saint-François, X, pangola, 1 ♂. — Petit-Canal, Bazin, XII, herbes et *Ipomoea batatas*.

Biologie. — A Porto Rico, l'espèce a été récoltée sur plantes herbacées et plantes buissonnantes des pâturages (CALDWELL et MARTORELL, 1952).

Cicadella prolixa (LETHIERRY). Type : Guadeloupe.

Selon YOUNG (*in* lettre 1970), cette espèce doit être placée dans un autre genre.

Distribution. — Limitée aux Petites Antilles, Guadeloupe, Dominique ; signalée du Honduras (GIBSON, 1919).

Nous l'avons trouvée dans les stations suivantes : *Guadeloupe*: Trois-Rivières, Moscou (700 m), I, IV, XI, herbes des clairières et bananeraies. — Bains-Jaunes (800 m), VI, clairières herbeuses ; Soufrière, Savane à Mulet, IV, sommet (1 340 m), I, forêt rabougrie. — Les Mamelles (500 m), V, VI, VIII, fossés herbeux de la route.

Carneocephala sagittifera (UHLER). Type : Saint-Vincent.

Distribution. — Régions subtropicales des U. S. A. ; Grandes et Petites Antilles, Cuba, Jamaïque, Bahamas, Porto Rico, Saint-Vincent, Grenade, Tobago, Trinidad ; Costa Rica (METCALF, 1965).

Aux Antilles françaises, l'espèce est largement distribuée du littoral aux zones montagneuses ; elle est partout abondante ou très abondante, surtout dans les stations très humides de basse altitude : *Marie-Galante* : Vidon, IX, II, pangola ; friches. — Saint-Louis, XII, I, herbages littoral. *La Désirade* : Grande Anse, V, X, XII, prairies littorales. *Guadeloupe* : Saint-François, X, pangola ; herbages. — Le Moule, Gardel, XI, prairie humide. — Petit-Canal, Bazin, II, friches. — Petit-Bourg, Duclos, VIII, XII, pangola, herbages naturels. — Sainte-Rose, Nogent, XII, herbages humides. — Piton (300 m), XII, savane et buissons. — Sainte-Marie, Neufchâteau, VI, XII, prairies. *Martinique* : Saint-Pierre, I, pangola. — Fond Lahaye, XI, prairie, pangola. — Saint-Joseph, III, VII, pangola. — Parnasse, XI, pangola, Le Marin, XI, pangola. — Morne-Vert, XI, pangola.

Biologie. — A Porto Rico, est commun dans les herbages humides, sur *Bidens pilosa*, *Mimosa pudica*, *Hyptis capitata*, *Volkemeria aculeata*. Aucun parasitisme n'a été observé sur cet insecte en Guadeloupe et en Martinique.

Hortensia similis (WALKER).

Distribution. — Néotropicale ; Floride ; Mexique ; Guatemala, Panama, Costa Rica ; Venezuela, Brésil, Colombie, Argentine ; Grandes et Petites Antilles, Cuba, Jamaïque, Hispaniola, Porto Rico, Dominique, Saint-Vincent, Trinidad (METCALF, 1965).

Aux Antilles françaises, l'espèce est largement répandue dans tous les biotopes à végétation herbacée dominante. Elle est en général abondante : *Marie-Galante* : Vidon, IX, pangola. *La Désirade* : Grande-Anse, XII, I, prairie littorale. *Les Saintes*, Terre de Haut, XII, I, herbages. *Guadeloupe* : Saint-François, X, pangola. — Le Moule, XI, prairie humide. — Sofaia, XII, au piège lumineux. — Petit-Bourg, Duclos, XII, I, pangola ; prairies. — Capesterre, Le Carbet, V, piège lumineux en lisière de forêt. — Trois-Rivières, Grande-Anse, IV, prairie Bains-Jaunes (800 m), I, clairières herbeuses en forêt. — Parnasse (600 m), IV, herbages. *Martinique* : Saint-Pierre, I, pangola. — Vert-Pré, XI, Herbe de Para, pangola. — XI, pangola. — Saint-Joseph, III, pangola. — Le Marin, XI, pangola. — Morne-Vert, XI, pangola.

Biologie. — Très abondant à Porto Rico dans les herbages humides à *Panicum purpurascens* notamment (CALDWELL et MARTORELL, 1952). Selon FENNAH (1947), l'espèce est d'importance négligeable pour les cultures de Maïs effectuées dans les Petites Antilles ; vit également sur Canne à sucre. Nous avons observé quelques individus parasités par un Strepsiptère du genre *Halictophagus* (n. sp., selon ABDUL-NOUR, 1970).

Tylozygus fasciatus (WALKER). Type : États-Unis.

Distribution. — Sud des États-Unis, Georgie, Floride ; Amérique centrale, Mexique, Panama, Guatemala, Honduras, Costa Rica ; Antilles, Cuba, Jamaïque, Porto Rico ; Amérique du Sud, Colombie (METCALF, 1965).

Aux Antilles françaises, l'espèce est connue des stations suivantes, où elle est peu abondante ou abondante : *Guadeloupe* : Saint-François, X, culture de pangola, herbages. — Petit-Bourg, Duclos, XII, pangola. — Capesterre, Routhiers, XII, herbes. *Martinique* : Saint-Joseph, III, pangola. — Parnasse, XI, pangola. — Le Marin, XI, pangola. Morne-Vert, XI, pangola.

Biologie. — Commun dans les prairies à toutes les altitudes à Porto Rico (CALDWELL et MARTORELL, 1952). Nous rapportons au genre *Ciminius* METCALF et BRUNER, quelques spécimens récoltés dans la station suivante : *Martinique* : Saint-Pierre, I, pangola. Cette forme a été obtenue en abondance en Guyane, Cayenne, 15-XI-1968 sur pelouse.

Stirellus bicolor (VAN DUZEE). Type : Mississippi.

Distribution. — Dans les régions néarctiques et néotropicales ; États Unis ; Amérique centrale, Mexique, Guatemala, Costa Rica ; Amérique du Sud ; Grandes et Petites Antilles, Cuba, Haïti, Saint-Vincent.

Aux Antilles françaises, l'espèce a été récoltée dans les stations suivantes, en faible à moyenne abondance : *Marie-Galante* : Vidon, IX, pangola ; prairie humide. *Guadeloupe* : Saint-François, X, pangola ; prairie. — Le Moule, XI, herbages. — Piton de Sainte-Rose (300 m), II, herbages. — Trois-Rivières, Grande Anse, IV, prairie. — Petit-Bourg, Duclos, VII, IX, pangola ; prairies. *Martinique* : Le Marin, III, XI, pangola. — Saint-Pierre, I, pangola. — Vert-Pré, XI pangola ; Para. — Parnasse, XI, pangola. — Morne-Vert, XI pangola. — Le Prêcheur, Fond Lamare, VII, herbages. — Saint-Joseph, Deux-Choux, VII, herbages.

Exitianus exitiosus (UHLER).

Distribution. — États Unis (s. l.) ; Grandes et Petites Antilles, Bahamas, Jamaïque, Porto Rico, Saint-Thomas ; Mexique.

Aux Antilles françaises, l'espèce a été trouvée dans les stations suivantes, dans les herbages humides ou frais des régions de basse et de moyenne altitude, en général peu abondant : *Marie-Galante* : Vidon, IX, pangola. — Saint-Louis, I, prairie littorale humide. *Guadeloupe* : Saint-François, X, pangola. — Petit-Canal, Chaber, XII, herbage humide. — Le Moule, Grands-Fonds, VIII, herbages. — Petit-Bourg, Duclos, XII, pangola. — Piton de Sainte-Rose, VI, friche herbeuse. — Plaine de Nogent, VIII, prairie humide. *Martinique* : Saint-Pierre, I, pangola. — Vert-Pré, XI, pangola, Herbe de Para. — Morne-Vert, XI, pangola. — Sainte-Anne, X, prairie ; pangola.

Biologie. — A autrefois été observé en nombre considérable dans certains états d'Amérique du Nord, où l'espèce aurait causé des dommages aux cultures de céréales (OSBORN, 1912). A Porto Rico, elle est commune dans les herbages des régions basses, sur *Bidens pilosa*, *Hyptis capitata*, *Mimosa pudica* (CALDWELL et MARTORELL, 1952). L'espèce a été associée à une maladie virale de la pomme de terre, mais NIELSON, 1968, ne pense pas que l'on puisse la considérer comme vecteur. Elle est parasitée par un Dryinide indéterminé en Martinique, Saint-Pierre.

Laevicephalus nigripennis (DE LONG). Type : Porto Rico.

Distribution. — Connu des Grandes Antilles, Cuba, Haïti, Porto Rico.

Aux Antilles françaises, la distribution semble limitée jusqu'à présent à la Guadeloupe calcaire. Assez commun à abondant sur les prairies humides ou inondées des zones littorales : *Marie-Galante* : Saint-Louis, I, prairie littorale. *Guadeloupe* : Petit-Canal, Grand-Maison, XI, herbage humide. — Le Moule, La Baie, X, herbage humide. — Saint-François, Pointe des Châteaux, X, pelouse humide.

Biologie. — A Porto Rico, se trouve dans les zones basses marécageuses (CALDWELL et MARTORELL, 1952).

Graminella cognita CALDWELL. Type : Porto Rico.

Distribution. — Porto Rico ; Saint-Thomas.

Aux Antilles françaises, assez commun depuis le niveau de la mer à la limite supérieure des cultures, dans les herbages et les cultures fourragères : *Marie-Galante* : Vidon, IX, pangola. *Guadeloupe* : Sainte-Marguerite, II, pangola. — Le Moule, XI, prairie humide. — Sainte-Rose, Nogent, VIII, prairie humide. — Petit-Bourg, Duclos, X, XII, pangola. *Martinique* : Le Marin, III, pangola. — Saint-Pierre, I, pangola. — Vert-Pré, XI, pangola ; Herbe de Para. — Saint-Joseph, III, VII, pangola ; prairie. — Fond Lahaye, XI, pangola ; prairie. — Parnasse, XI, pangola. — Morne-Vert, XI, pangola.

Biologie. — A Porto Rico, se trouve partout sur les gazons. Est parasité par Dryinides, Strepsiptères, en Guadeloupe et en Martinique. Les Strepsiptères sont du genre *Halictophagus* (n. sp., dét. ABDUL-NOUR).

Graminella colona (UHLER). Type : Saint-Vincent.

Distribution. — Espèce néotropicale, largement répandue dans le sud-est des États-Unis, Floride, Georgie ; Grandes et Petites Antilles, Bermudes, Cuba, Jamaïque, Haïti, Porto Rico, Saint-Thomas, Saint-Vincent ; Amérique du Sud, Brésil.

Aux Antilles françaises, dans les herbages du littoral à moyenne altitude, commun par places, parfois en mélange avec d'autres espèces du genre : *Marie-Galante* : Vidon, IX, pangola. *Guadeloupe* : Saint-François, X, pangola. — Petit-Bourg, Duclos, X, XI, XII, pangola. — Piton de Sainte-Rose, XII, herbage. — Nogent, VIII, prairie humide. *Martinique* : Le Marin, III, IX, pangola. — Saint-Pierre, I, pangola. — Vert-Pré, XI, pangola ; Herbe de Para. — Saint-Joseph, III, pangola. — Morne-Vert, XI, pangola.

Graminella nigrifrons (FORBES). Type : Illinois.

Distribution. — États Unis, Illinois ; Grandes Antilles, Cuba, Jamaïque, Porto Rico, Vieques. Aux Antilles françaises, l'espèce n'est jusqu'à présent connue que de la Guadeloupe calcaire. Elle est plus largement répartie sans doute : *Guadeloupe* : Le Moule, 12-XI-1969, herbage autour d'une mare semi-permanente, 5 ♂, 4 ♀. — Le Moule, Les Deux-Mares, 13-XI-1969, prairie humide, 2 ♂, 2 ♀.

Biologie. — L'espèce est commune sur les herbages à Porto Rico (CALDWELL et MARTORELL, 1952). Vecteur du « Corn Stunt Virus » dans le sud des États-Unis, mis en évidence par MARAMOROSCH *et al.*, 1966 (NIELSON, 1968).

Graminella punctata CALDWELL. Type : Porto Rico.

Distribution. — Cette espèce, voisine de *G. nigrifrons*, est connue seulement de quelques stations typiques, Rio-Piedras, Ponce, à Porto Rico. Nous l'avons récoltée aux Antilles françaises dans quelques stations de moyenne altitude, toujours assez rare : *Guadeloupe* : Petit-Bourg, Duclos, VIII, IX, pangola. *Martinique* : Saint-Pierre, I, pangola. — Vert-Pré, XI, pangola, Herbe de Para. — Schoelcher, Desmarche, VIII, prairie.

Chlorotettix cognitus CALDWELL. Type : Porto Rico.

Distribution. — Limitée jusqu'à présent à Porto Rico. L'espèce semble assez commune aux Antilles françaises, depuis le littoral jusqu'aux altitudes moyennes : *Marie-Galante* : Vidon, IX, pangola. *Guadeloupe* : Saint-François, X, pangola. — Le Moule, XI, prairie humide. — Sainte-Rose, Nogent, VIII, prairie humide. *Martinique* : Saint-Pierre, I, pangola. — Vert-Pré, XI, pangola. — Fond Lahaye, XI, prairie ; pangola. — Morne-Vert, XI, pangola.

Biologie. — Elle est très commune à Porto Rico dans les herbages et les prairies.

Chlorotettix minimus BAKER. Type : Brésil, Bahia.

Distribution. — Floride ; Amérique centrale et Amérique du Sud, Guatemala, Brésil.

Aux Antilles françaises, l'espèce est commune du littoral aux zones de moyenne altitude jusqu'à 500 m ; elle apparaît suivant les stations peu ou assez abondante : *Guadeloupe* : Saint-François, X, pangola. — Sainte-Rose, Piton (300 m), II, friches herbeuses. — Nogent, VIII, prairie inondée. — Sainte-Marie, Neufchâteau, I, prairie. Trois-Rivières, Grande-Anse, IV, prairie littorale. — Pointe-Noire, Morne-à-Louis (500 m), III, herbages. *Martinique* : Le Marin, III, XI, pangola. — Vert-Pré, XI, pangola. — Parnasse, XI, pangola. — Saint-Joseph, III, pangola. — Fond-Lahaye, XI, prairie ; pangola. — Morne-Vert, XI, pangola.

Biologie. — Espèce vivant sur les herbes à Porto Rico (CALDWELL et MARTORELL, 1952) ; également signalée sur *Asparagus* spp. à Porto Rico et aux Petites Antilles (FENNAH, 1947).

Deltocephalus flavicosta (STAL). Type : Rio de Janeiro.

Distribution. — Vaste répartition de l'Amérique du Nord, le Canada, jusqu'à l'Amérique du Sud ; aux Antilles l'espèce est connue à Cuba, Jamaïque, Porto Rico, Iles Vierges, Saint-Vincent. Nous l'avons récoltée en Dominique et aux Antilles françaises. Elle est largement répandue sur toutes les îles à toutes altitudes, mais plus commune dans les différentes zones littorales : *Marie-Galante* : Vidon, IX, pangola ; prairie. *Guadeloupe* : Saint-François, X, pangola ; prairies — Baie-Mahault, XII, herbages. — Petit-Bourg, Duclos, XII, pangola. — Piton de Sainte-Rose, XII, friche herbeuse. — Sainte-Marie, Neufchâteau, I, prairie. *Martinique* : Le Marin, III, XI, pangola. — Saint-Pierre, I, pangola. — Vert-Pré, XI, pangola. — Parnasse, XI, pangola. — Saint-Joseph, Deux-Choux (400 m), VII, prairies.

Biologie. — Espèce des herbages, considérée comme très commune à Porto Rico (CALDWELL et MARTORELL, 1952). Parasitée par des Dryinides et par des Strepsiptères en Guadeloupe et en Martinique (g. *Halictophagus* n. sp., dét. ABDUL-NOUR, 1970).

Sanctanus (Cruciatanus) fasciatus (OSBORN). Types : Haïti ; Mexico.

Distribution. — Des régions néotropicales ; sud-est des États-Unis, Floride, New Jersey, Texas, Mississippi ; Mexique ; Amérique Centrale, Guatemala ; Amérique du Sud, Brésil, Guyanes ; Grandes Antilles, Cuba, Jamaïque, Hispaniola, Porto Rico, Vieques, Bahamas.

Aux Antilles françaises, l'espèce a été récoltée en quelques stations du littoral et de moyenne altitude, à végétation herbacée ; peu abondant : *Guadeloupe*: Le Moule, Deux-Mares, XI, herbager humide. — Sainte-Rose, Cluny, VIII, prairie inondée. *Martinique*: Vert-Pré, XI, pangola.

Biologie. — L'espèce est inféodée aux graminées et aux plantes basses des prairies à Porto Rico (CALDWELL et MARTORELL, 1952).

Xestocephalus pulicarius VAN DUZEE. Types : New York, Canada, Ontario.

Distribution. — Vaste répartition s'étendant sur la région néarctique (Canada, États-Unis) ; sur la région néotropicale des Antilles à l'Amérique du Sud, Bahamas, Cuba, Jamaïque, Porto Rico, Brésil, Bolivie, Paraguay. Ne paraît pas encore signalée des Petites Antilles ; cependant, nous l'avons récoltée dans les stations suivantes : *Martinique*: Vert-Pré, XI, pangola. — Le Marin, XI, pangola. — Schoeher, Desmarche, VIII, prairie. *Guadeloupe* : Piton de Sainte-Rose (300 m), XII, friche herbeuse.

Biologie. — A Porto Rico, l'espèce a été récoltée dans les zones herbeuses et sur les buissons, dans les plantations de caféier, en moyenne et à haute altitude (CALDWELL et MARTORELL, 1952).

Nesosteles incisus (MATSUMURA). Type : Kyushu.

Distribution. — Espèce à très vaste répartition comprenant les Amériques, les îles de l'Océan Pacifique. Dans l'archipel des Antilles, elle est connue de Cuba, Haïti, Porto Rico, Vieques, Sainte-Croix, Saint-Thomas.

Nous l'avons récoltée aux Antilles françaises, sur différentes stations herbacées du littoral ; peu abondant en général : *La Désirade*: Grande-Anse, V, prairie humide. *Les Saintes*: Terre-de-Haut, III, prairie. *Guadeloupe*: Le Moule, XI, prairie humide. — Gardel, XI, prairie humide. — Trois-Rivières, Grande-Anse, IV, prairie littorale. *Martinique*: Vert-Pré, XI, pangola ; Herbe de Para.

Nesosteles guajanae (DE LONG). Types : Porto Rico, Vieques.

Distribution. — Dans le sud-est des États-Unis ; en Amérique centrale, Guatemala ; dans les Grandes Antilles, Cuba, Haïti, Porto Rico, Mona ; dans les Petites Antilles (FENNAH, 1947).

Aux Antilles françaises, l'espèce a été trouvée dans quelques stations littorales, en petit nombre : *Saint-Martin*: Aérodrome, IV, pelouse. *Guadeloupe*: Trois-Rivières, Grande-Anse, IV, prairie. *Martinique*: Vert-Pré, XI, pangola. — Parnasse, XI, pangola.

Biologie. — Récoltée à Porto Rico sur des herbes du littoral (CALDWELL et MARTORELL, 1952). FENNAH, 1947, le signale sur *Sorghum* spp., sur Canne à sucre, gazons dans les Petites Antilles.

Nesosteles virescens OSBORN. Type : Cuba.

Distribution. — Sud des États-Unis, Floride, Georgie ; Amérique du Sud, Pérou ; Grandes et Petites Antilles, Cuba, Porto Rico.

Aux Antilles françaises, l'espèce a été récoltée dans la stations suivante : *Guadeloupe*: Le Moule, Gardel, XI, prairie humide, 2 ♂, 1 ♀.

Biologie. — A Porto Rico, l'espèce a été récoltée le long de la plaine côtière (CALDWELL et MARTORELL, 1952), sur herbes et buissons.

Nesosteles floridanus (DE LONG et DAVIDSON). Type : Floride.

Distribution. — Dans les îles de l'Océan Pacifique ; en Amérique du Nord, Texas, Géorgie, Floride, Mexique ; en Amérique centrale, Guatemala, Panama ; dans les Grandes Antilles, Cuba, Haïti, Porto Rico.

Aux Antilles françaises, l'espèce a été récoltée jusqu'à présent seulement dans la station suivante : *Martinique* : Vert-Pré, 18-XI, 1969, pangola, 1 ♂.

Biologie. — A été observé à Porto Rico sur les herbes du littoral et en altitude (CALDWELL et MARTORELL, 1952).

Nesosteles minutus (OSBORN). Type : Porto Rico.

Distribution. — L'espèce est citée seulement de Porto Rico. Nous l'avons trouvée aux Antilles françaises dans la station suivante : *Guadeloupe* : Trois-Rivières, Grande-Anse, 1-IV-1970, herbage, 5 ♂, 1 ♀.

Biologie. — Très abondant à Porto Rico sur les herbages du littoral de la côte sud (CALDWELL et MARTORELL, 1952).

Cicadulina tortilla CALDWELL. Type : Porto Rico.

Distribution. — Décrit de Porto Rico et aussi de l'Amérique du Sud, Colombie, Pérou ; Mexique.

Aux Antilles françaises, nous avons trouvé l'espèce dans les stations suivantes : *Guadeloupe* : Petit-Bourg, Duclos, X, pangola. — Sofaia (200 m), VII, herbage. — Piton de Sainte-Rose (300 m), II, pelouse. — Petit-Bourg, Riv. Corossol (300 m), X, clairière herbeuse. — Le Moule, XI, herbage humide. *Martinique* : Vert-Pré, XI, pangola ; Herbe de Para.

Biologie. — Le genre *Cicadulina* CHINA renferme plusieurs espèces dont cinq sont des vecteurs confirmés de maladies à virus des plantes (NIELSON, 1968).

Macrosteles fascifrons (STAL).

Distribution. — Amérique du Nord, vaste répartition du Canada au sud des États-Unis (METCALF, 1967 ; NIELSON, 1968) ; Antilles, Bahamas, Jamaïque, Porto Rico, Vieques, S. Bimini, Martinique.

Aux Antilles françaises, l'espèce paraît assez rare : *Guadeloupe* : Le Carbet, lisière de forêt, V, herbes, au piège lumineux. Nous l'avons trouvé également à la Dominique ; Pont-Cassé, XII, friches, mais pas encore en Martinique, où elle a été cependant signalée autrefois (BASSIÈRES).

Biologie. — C'est un des plus importants agents vecteurs de différents virus en Amérique du Nord (NIELSON, 1968). Se trouve sur les herbes et les plantes basses, jusqu'à environ 600 m d'altitude à Porto Rico (CALDWELL et MARTORELL, 1952). C'est une des rares espèces citées des Antilles françaises dans la littérature existante ; elle serait l'agent causal de la dégénérescence de la Canne à sucre en Martinique (BASSIÈRES, 1912).

Typhlocybella minima BAKER. Type : Nicaragua.

Distribution. — Citée de l'Amérique et des Antilles ; Nicaragua, zone du Canal

à Panama, Costa Rica ; Floride ; Cuba, Porto Rico, Saint-Thomas, Saint-Vincent.

Aux Antilles françaises elle a été récoltée en de nombreuses stations littorales et de moyenne altitude ; elle est en général commune et parfois abondante dans les prairies et les herbes cultivées : *Guadeloupe* : Saint-François, XI, pangola. — Le Moule, XI, herbage humide. — Sainte-Rose, Nogent, VIII, prairie humide ; Piton (300 m), XII, friches. — Trois-Rivières, Grande Anse, IV, prairie. *La Désirade* : Grande Anse, V, prairie littorale. *Martinique* : Le Marin, III, XI, pangola. — Vert-Pré, XI, pangola ; Herbe de Para. — Parnasse, XI, pangola. — Morne-Vert, XI, pangola.

Biologie. — L'espèce, commune à Porto Rico et à Saint-Thomas, vit sur les gazons (CALDWELL et MARTORELL, 1952). Elle est, selon OSBORN, 1935, commune à Cuba et à Panama, sur différentes graminées parmi lesquelles l'herbe de Guinée (*Panicum maximum*). Bien que parfois très abondante, on ne lui attribue pas d'importance économique particulière.

Protalebrella brasiliensis (BAKER). Type : Minas Gerais.

Distribution. — Vaste répartition dans les régions néotropicales ; Amérique du Nord, Floride, Texas, Mexique ; Amérique centrale, Guatemala, Panama, Honduras ; Amérique du Sud, Colombie, Venezuela, Bolivie, Brésil ; Grandes et Petites Antilles, Cuba, Jamaïque, Porto Rico, Iles Vierges, Saint-Vincent, Barbade, Grenade, Trinidad.

Nous l'avons récoltée à la Dominique et aux Antilles françaises ; elle est commune, tous les mois de l'année, principalement dans les zones couvertes de végétation basse herbacée, assez fraîche ou humide, dans les étages du littoral jusqu'à environ 500 m : *La Désirade* : Grande Anse, V, prairie littorale humide. *Guadeloupe* : Trois-Rivières, Grande Anse, IV, prairie. — Sainte-Rose, Cluny, toute l'année, prairies naturelles ; pangola ; friches. *Martinique* : Saint-Pierre, I, pangola. — Fond Lahaye, XI, prairie ; pangola.

Biologie. — Également commune à Porto Rico, elle est dans différents types de végétation, mais principalement dans les herbages pâturé, où croissent *Bidens pilosa*, *Mimosa pudica*, *Hyptis capitata* (CALDWELL et MARTORELL, 1952). FENNAH, (1947) la signale dans les Petites Antilles, sur diverses plantes telles que Canne à sucre, graminées gazonnantes, *Bidens pilosa*, *Wedelia* sp., Carotte, Persil, Kummel, Céleri.

Empoasca fabae (HARRIS).

Sous la terminologie généralement utilisée, on a désigné probablement une des formes du « complexe *Empoasca fabae* », différencié à partir de 1957 par ROSS et MOORE, ROSS (1959). Nous n'avons pu tenir compte de ces travaux dans notre étude.

Distribution. — L'espèce (s. l.) est répartie dans toutes les Amériques.

Aux Antilles et signalée de Cuba, Bermudes, Hispaniola, Jamaïque, Porto Rico, Iles Vierges (METCALF, 1968). Selon ROSS (1959) *Empoasca fabae* HARRIS est une forme propre au continent, commune en Amérique du Nord :

Aux Antilles seraient distribuées des formes récemment définies, telles que *Empoasca andae* ROSS et MOORE, 1957, *E. zapoides* ROSS, 1959, *E. krameri* ROSS et MOORE, 1957, *E. fenestra* ROSS, 1959, etc., décrite notamment de Porto Rico.

Aux Antilles françaises : *Guadeloupe* : Petit-Bourg, Duclos, XII, pangola. —

Sofaia (300 m), XII, herbage. — Saint-François, IV, pois d'Angole ; VIII, pangola. *Martinique* : Saint-Pierre, I, pangola. — Saint-Joseph, III, pangola. — Fond Lahaye, Desmarche, XI, pangola ; prairie. — Vert-Pré, XI, pangola.

Biologie. — L'espèce paraît polyphage et se trouve sur des hôtes végétaux très divers ligneux et herbacés. C'est la plus commune des espèces du genre *Empoasca* à Porto Rico (CALDWELL et MARTORELL, 1952).

Elle a été considérée comme vecteur possible de viroses de la Pomme de terre et de la mosaïque de la Tomate aux États-Unis (CLEVELAND, 1931), à tort selon NIELSON, 1968.

Reçu pour publication en janvier 1971.

SUMMARY

DISTRIBUTION OF THE PRINCIPAL LEAFHOPPERS IN THE FRENCH WEST INDIES MEADOWS (HOMOPTERA)

Entomological fauna of meadows and forage crops in French West Indies is actually little known. First investigation is made about leafhoppers (*Homoptera*).

In Fulgoroid Group have been collected species of Delphacids (7 gen.), Cixiids (3 gen.), Flatids (1 gen.) ; in Cicadellids, mention are given about six, sub-families, and Deltocephalinae are the most representative.

Catalogue of the most typical species of the fauna is given, with notes on localities, abundance, and bionomics.

Some of the referenced species are insect vectors of diseases of plant crops ; these species are economically important for the countries.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ADSUAR J., 1955. A disease of tomato in Puerto Rico resembling the brazilian curly top of tomatoes. *Jour. Agric. Univ. Puerto Rico*, **39**, p. 113-114.
- BASSIÈRES J., 1912. Maladies de la Canne à Sucre. *Sucr. Indig. et Colon*, **79**, p. 29. Paris 1912.
- BISSESSAR S., 1966. Virose du rabougrissement de l'herbe pangola et réaction des espèces de *Digitaria* au virus en Guyane. *Bull. phytosanitaire de la F. A. O.*, **14**, n° 3, juin 1966, p. 60-62.
- CALDWELL J. S., MARTORELL L. F., 1952. Review of the *Auchenorynchus Homoptera* of Puerto Rico, Part. I, *Cicadellidae*. *Jour. Agric. Univ. Puerto Rico*, **34**, n° 1, janvier 1950, p. 1-132 + VIII.
- CALDWELL J. S., MARTORELL L. F., 1951. Review of the *Auchenorynchus Homoptera* of Puerto Rico, Part. II, the *Fulgoroidea* except *Kinnaridae*. *Jour. Agric. Univ. Puerto Rico*, **34**, n° 2, april 1950, p. 133-269 + X.
- CLEVELAND C. R., 1931. The relation of insects to the transmission of potato leaf-roll and tomato mosaic in Indiana. *Ind. (Purdue) Agr. Expt. Stat. Bul.*, **351**, 24 pp.
- DIRVEN J. G. P., VAN HOOFF H. A., 1960. A destructive virus disease of pangolagrass. *Tijdschr. Pl. ziekten*, **66**, p. 344-349.
- FENNAH R. G., 1947. *The insect pests of food-crops in the Lesser Antilles*, 208 pp. Department of Agriculture for the Windward Is., Grenana, BWI ; for the Leeward Island, Antigua, BWI.
- FENNAH R. G., 1959. Delphacidae from the lesser Antilles (*Homoptera* : *Fulgoroidea*). *Bull. Brit. Mus. (Nat. Hist.)*, *Entom.*, **8** (6), p. 245-265.
- FENNAH R. G., 1963. The Delphacid species-complex known as *Sogata furcifera* (HORVATH) (*Homoptera* : *Fulgoroidea*). *Bull. Ent. Res.*, **54**, 1, p. 45-79.
- METCALF Z. P., 1962. General Catalogue of the Homoptera. Fasc. 6, *Cicadelloidea*, pt. 1, *Tettigellidae*. 730 pp. U. S. Agric. Res. Serv., Washington D. C.

- METCALF Z. P., 1962. *General Catalogue of the Homoptera*. Fasc. 6, *Cicadelloidea*, pt. I, *Ledtridae*, 147 pp. U. S. Agric. Res. Serv., Washington, D. C.
- METCALF Z. P., 1966. *General Catalogue of the Homoptera*. Fasc. 6, *Cicadelloidea* pt. 14, *Agalliidae*. 173 pp. U. S. Agric. Res. Serv., Washington, D. C.
- METCALF Z. P., 1968. *General Catalogue of the Homoptera*. Fasc. 6, *Cicadelloidea* pt. 10, *Euscelidae*, sections I, II, III. 2 695 pp. U. S. Agric. Res. Serv., Washington, D. C.
- METCALF Z. P., 1968. *General Catalogue of the Homoptera*. Fasc. 6, *Cicadelloidea* pt. 17, *Cicadellidae*, 1 513 pp. U. S. Agric. Res. Serv., Washington, D. C.
- NIELSON M. W., 1962. A revision of the genus *Xerophloea* (*Homoptera*, *Cicadellidae*). *Ann. ent. Soc. America*, **55** (2), p. 234-244.
- NIELSON M. W., 1968. The leafhoppers vectors of phytopathogenic viruses (*Homoptera*, *Cicadellidae*), Taxonomy, biology and virus transmission. U. S. D. A., *Techn. Bull.*, n° 1 382, Washington, D. C., 386 pp.
- OSBORN H., 1912. Leafhoppers affecting cereals, grasses and forage crops. U. S. D. A., *Bull. Bur. Ent.* (n.s.), n° 108, p. 1-123; Washington, D. C.
-

**FACULTÉS DE RÉSISTANCE
ET CONSERVATION DE LA VIRULENCE
DE *RICKETTSIELLA MELOLONTHAE*,
AGENT DE LA RICKETTSIOSE DES LARVES
DE *MELOLONTHA* SP. (COLÉOPTÈRES *SCARABAEIDAE*)**

B. HURPIN

avec la collaboration technique de P. H. ROBERT

*Station de Recherches de Lutte biologique et de Biocénétique, I. N. R. A.,
La Minière, 78 - Versailles*

RÉSUMÉ

La résistance de cette rickettsie, agent de la « maladie bleue » des larves de *Melolontha*, à divers agents physiques ou chimiques a été étudiée en soumettant pendant différents délais des suspensions, préparées soit par dilution dans l'eau stérile d'hémolymphe de ver blanc malade soit à partir de broyat de tissu adipeux, à l'action des facteurs suivants : température, ultraviolets, antiseptiques, sulfamides, antibiotiques. Ensuite, il était procédé à l'injection de ces suspensions dans la cavité générale ou dans l'œsophage de larves saines du troisième stade, pour vérifier leur pouvoir pathogène. Dans chaque cas, de multiples répétitions ont été effectuées ; tous ces essais mettent en évidence la capacité exceptionnelle de résistance de *R. melolonthae* aux agents utilisés.

Il a été rappelé à maintes reprises (CAMERON, 1967 ; HEIMPEL, 1963 ; TANADA, 1961 et VAGO, 1964) que parmi les propriétés des germes entomopathogènes indispensables à prendre en considération pour définir leur aptitude à être utilisés en lutte microbiologique figurent les possibilités de conservation à la fois avant l'emploi et après dispersion dans le milieu où vit l'insecte à détruire. Les potentialités épizootologiques de ces germes sont en effet directement en rapport avec leurs facultés de résistance et de rémanence.

Au cours de l'étude des caractéristiques pathologiques et épizootologiques des principales maladies des vers blancs, nous avons donc porté une attention spéciale à cet aspect important des qualités entomopathogènes des microorganismes en cause, et nous avons étudié notamment *Rickettsiella melolonthae* à ce point de vue.

Cette rickettsie détermine chez les larves des Hanneçons (*Melolontha* sp.) une maladie mortelle par prolifération des éléments pathogènes dans le cytoplasme des cellules du tissu adipeux dont la lyse donne un aspect gris bleuâtre aux insectes atteints.

Les caractères histopathologiques de cette rickettsiose ont fait l'objet de multiples travaux, notamment de KRIEG (1961, 1963) et de VAGO (1959) que nous résumons par ailleurs (HURPIN, 1971), tandis que les aspects épizootiologiques ont été pris en considération par NIKLAS (1960) et par nous-même (HURPIN, 1960, 1971).

Dans ce mémoire nous présentons les résultats des expériences que nous avons poursuivies depuis 1960 en vue de délimiter les capacités de résistance de ce germe à divers facteurs d'agression physico-chimiques et aux principales catégories de produits ou procédés germicides et aussi, d'une façon plus globale, en vue d'examiner ses potentialités de conservation en fonction du temps et du milieu considéré.

Dans le premier cas, nous avons étudié surtout l'action des températures élevées, des rayons ultraviolets, de substances antiseptiques et d'un certain nombre d'antibiotiques. Dans le deuxième cas, nous avons suivi avec le temps la perte de virulence de la rickettsie selon la température dans différents types de milieux : hémolymph infectée, cadavre de ver blanc malade, sols contaminés.

Après avoir soumis le microorganisme à l'action de l'antagoniste pendant un délai déterminé, le contrôle de sa virulence a été opéré soit par injection dans l'hémolymph de larves de *M. melolontha* du troisième stade, soit par injection dans l'œsophage, soit par ingestion libre à partir du substrat d'élevage dans lequel les rickettsies ont été incorporées, en ayant recours à la technique d'élevage en boîtes individuelles à 20° ou 25°, déjà décrite (HURPIN, 1964). Le renouvellement du morceau de carotte donné comme aliment aux larves et les observations sur l'état de celles-ci étaient effectués toutes les deux semaines. Un prélèvement d'hémolymph et de tissu adipeux chez les insectes morts ou malades avait pour but, par coloration au Macchiavello du frottis, de rechercher la présence des rickettsies, dont la mise en évidence est facilitée par les cristaux caractéristiques formés au cours de l'évolution de la maladie.

La plupart des lots comportait 10 larves, nombre suffisant pour apprécier la survie du germe selon les épreuves auxquelles il est soumis.

Dans une première partie, nous traiterons des essais sur les facultés de résistance aux interventions germicides, dans une deuxième partie de l'expérimentation sur la capacité de survie de *R. melolonthae* dans différents milieux.

I. — ÉTUDE DES FACULTÉS DE RÉSISTANCE

Cette étude a eu pour buts d'une part de délimiter les possibilités de maintien de la pathogénie de cette rickettsie en présence d'agents antagonistes tels que les antiseptiques et antibiotiques, d'autre part d'un point de vue technique de définir les modalités de désinfection du matériel ou de purification d'une préparation à base de ce microorganisme, tout en fournissant des éléments pour l'interprétation de son comportement dans la nature : réactions à certains facteurs climatiques

(température, insolation, par exemple), rôle éventuel d'antibiotiques sécrétés par d'autres microbes du sol, etc.

Par ailleurs, la connaissance des facultés de résistance de *R. melolonthae* à de tels agents d'agression physicochimiques permettait de comparer ces facultés à celles des autres rickettsies, pathogènes pour l'Homme et les Vertébrés et qui sont, en général, très sensibles : les agents des typhus *Rickettsia prowazeki* et *R. mooseri*, en suspension, ne supportent pas 10 minutes à 50°C (WEYER, 1961) ni quelques heures à la température du laboratoire dans le sérum physiologique ou le liquide de Tyrode. Il faut un milieu de pH voisin de 7,0, renfermant des protéines et des lipoides à une concentration convenable pour conserver ces rickettsies en vie plusieurs heures.

1. — Thermorésistance

Cette propriété a fait l'objet d'une foule de travaux, en microbiologie, portant sur tous les types de germes avec toutefois une attention spéciale pour les spores bactériennes. Les résultats sont fréquemment contradictoires et ceci s'explique par le grand nombre de facteurs qui interviennent, ainsi qu'il l'a été maintes fois rappelé (SCHMIDT, 1957 ; SYKES, 1958 ; HANSEN et RIEMANN, 1963 ; SUSSMAN et HALVORSON, 1966) : facteurs intrinsèques tels que la souche, l'âge de la culture, facteurs du milieu pendant la croissance du germe avant l'épreuve à la température (nature du milieu de culture, par exemple) et facteurs du milieu utilisé pour l'essai de thermorésistance (composition et pH du liquide utilisé pour la suspension, concentration du germe, etc.). Par ailleurs, il y a lieu de tenir compte des modalités pratiques de l'expérience et notamment de la vitesse de la mise en température et du temps nécessaire pour atteindre le niveau thermique considéré ainsi que des modalités de refroidissement.

Nous avons eu recours à l'ampoule de 2 cm de longueur et 1 cm de diamètre renfermant 1 ml de la suspension de rickettsies. Elle était mise sans transition dans un bain-marie porté à la température désirée et muni d'un agitateur assurant l'homogénéisation des conditions thermiques par brassage de l'eau. Au bout du délai fixé, l'ampoule était retirée du bain-marie et placée aussitôt à 20°C. Du fait du faible volume de suspension l'inertie de ce système se trouvait réduite et par suite l'erreur commise était moindre.

Deux catégories de suspensions ont été utilisées à différentes concentrations pour apprécier le rôle éventuel des protéines, lipides et autres constituants cellulaires, ainsi que l'effet du nombre d'éléments : le prélèvement d'hémolymphe et de tissu adipeux malade plus ou moins dilué dans l'eau stérile, la suspension purifiée préparée à partir du broyat de tissu adipeux, filtré, centrifugé et lavé.

Après le passage à la température étudiée, il était procédé à l'injection intra-cœlomique de 0,1 ml à des lots de 10 larves du troisième stade de *M. melolontha*. Parallèlement un lot était injecté avec la même suspension non soumise à la thermorésistance pour vérifier la virulence du matériel étudié, tandis que deux autres lots servaient de témoins : l'un non injecté, l'autre inoculé avec de l'eau stérile.

Le tableau 1 présente les résultats des expériences effectuées à différentes reprises avec des préparations de rickettsies d'origine variée. Il témoigne de la résistance exceptionnelle de *R. melolonthae* à la température, puisque des suspensions sont encore infectieuses après deux heures à 85° et certaines après 15 minutes à 95°.

Dans les deux essais avec l'hémolymphes la dilution habituelle a été employée : deux gouttes d'hémolymphes dans 10 ml d'eau stérile. Les suspensions non purifiées correspondaient au broyat dans l'agitateur à billes de verre du tissu adipeux et de l'hémolymphes d'un ver blanc malade. Ce broyat était ensuite filtré 3 ou 4 fois sur

TABLEAU I
Cas de rickettsiose après traitement de l'inoculum par la chaleur
(Lots de 10 L₃)

Température (°C)	Durée (mn)	Hémolymphes dilués		Suspension non purifiée		Suspension purifiée	
		A	B	A	B	A	B
60	15				9		5
	30				8		6
	45				9		9
	60				8		8
	120				7		8
70	15				3		9
	30				2		1
	45				6		6
	60	10			8		10
	120				2		2
80	15	10	3	1	6		8
	30	2		1	6		2
	45		1	2	10		1
	60		0	1	4		0
	80		1		—		—
	100		1		—		—
	120		6		1	8	0
85	15	10	3	5			6
	30		—	2			0
	45		0	0			1
	60	7	0	9		8	1
	120		2	—		3	3
90	15		2	0	0	7	
	30		—	0	0		
	45		0	0	0		
	60		0	0	0	4	
	120		0	—	—		
95	20		0			3	

tube d'Allihn n° 1, 2, 3 et 4 (de porosité respective : 90 à 150 μ , 40 à 90 μ , 15 à 40 μ et 5 à 15 μ) puis centrifugé 20 minutes à 1 500 tours/mn pour recueillir le surnageant. Dans le cas de suspensions purifiées le filtrat était soumis à une centrifugation à 1 700 tours/mn pendant 10 minutes et le surnageant additionné d'eau stérile pour obtenir 10 ml de suspension. Celle-ci centrifugée à 5 000 ou 6 000 tours pendant 20 minutes déposait un sédiment remis en suspension dans 10 ml d'eau stérile, centrifugée une deuxième fois pour donner un sédiment ne renfermant plus de débris cellulaires et utilisé pour la suspension étudiée.

En dépit de l'hétérogénéité des chiffres du tableau que l'on peut vraisemblablement attribuer surtout à la variabilité des concentrations du germe, ainsi qu'à l'iné-

galité de thermorésistance des rickettsies d'une épreuve à l'autre, plutôt qu'à l'hétérogénéité des vers blancs injectés, il n'apparaît pas de différence sensible dans la thermorésistance selon le milieu où les rickettsies sont dispersées : hémolymph, suspension purifiée ou non. Or, ces différents milieux ont une richesse bien différente en constituants cellulaires, en protéines, lipides et autres composés biochimiques provenant des tissus de l'hôte. On doit donc admettre que ces substances n'ont pas de rôle protecteur et que la résistance à la chaleur est le fait des éléments rickettsiens eux-mêmes dont la nature des protéines, la structure de la membrane, leur confèrent une résistance qui atteint presque celle de spores bactériennes parmi les plus difficiles à détruire (*Clostridium*, *Plectridium*). En effet, en complément des faits présentés par le tableau, il y a lieu de tenir compte des résultats de plusieurs essais à 100°, d'une part en soumettant à cette température, dans le dispositif habituel, soit de l'hémolymph filtrée, soit une suspension purifiée, d'autre part en ajoutant de l'hémolymph infectée à de l'eau en ébullition qui, après refroidissement, est inoculée à 10 vers blancs. D'après le tableau 2, même dans ces conditions la rickettsiose des *Melolontha* parvient souvent à conserver une virulence suffisante pour provoquer l'infection des larves.

TABLEAU 2

Résistance de *R. melolonthae* à 100°C

Présentation	Cas de rickettsiose après un traitement à 100° de			
	1 minute	3 minutes	5 minutes	10 minutes
Hémolymph dans eau bouillante	0	0	0	—
id.	3	—	3	4
Hémolymph filtrée	8	5	—	—
Suspension	0	0	0	—

Nous n'avons pas abordé l'examen du déterminisme de cette thermorésistance mal connu chez les spores de bactéries (SCHMIDT, 1957), qui distingue *R. melolonthae* des autres microorganismes du groupe. Le plus résistant est *C. burneti* qui a fait l'objet de multiples travaux, cités par BABUDIERI (1959), ZODROVSKII et GOLINEVICH (1960), NICOLAU et CONSTANTINESCU (1965) et bien d'autres auteurs, sur ses facultés de conservation et notamment sur ses réactions aux températures élevées : 60° à 65°C pendant une heure paraît être la limite supportable par cette rickettsie.

D'après les récentes recherches effectuées à Oxford par le laboratoire de pathologie des insectes (1969), la rickettsie de *Samia cynthia* × *ricini* résiste à 60°C pendant 2 heures et à 80° pendant 10 minutes, mais ne supporte pas 85° pendant 10 minutes.

On doit remarquer, d'ailleurs, que les virus entomopathogènes inclus dans leurs corps protidiques de protection (polyèdres ou granules) sont inactivés pour des températures et des délais analogues à ceux de *C. burneti* et par suite inférieurs à ceux de *R. melolonthae* : 30 minutes à 70° pour les polyèdres nucléaires de *Bombyx mori* (WATANABE, 1951), 10 minutes à 70°C pour les granules de *Pieris brassicae*

(DAVID et GARDINER, 1967), par exemple ; plus de 10 minutes à 60°C pour le virus à inclusions fusiformes, *Vagoiavirus melolonthae*, des vers blancs (ROBERT, 1969).

Le maintien de la virulence de *R. melolonthae* après un passage à des températures élevées est cependant fonction de l'origine de la souche.

En effet, outre les 6 essais mentionnés dans le tableau 1 nous avons procédé à l'étude à 80°, 85°, 90° et 95°C de trois autres préparations de rickettsies : un prélèvement d'hémolymph dilué 1 000 fois, et deux suspensions purifiées. Dans les trois séries, aucun cas de rickettsiose ne fut décelé chez les larves injectées avec un inoculum ayant subi l'épreuve de thermorésistance quelles que soient la durée et la température, à partir de 15 minutes à 80°. Dans les lots témoins injectés avec ces mêmes suspensions non chauffées, on note respectivement 8, 5 et 3 vers blancs atteints de rickettsiose. Ces résultats négatifs semblent en rapport avec l'origine des souches employées dans ces 3 expériences : il s'agissait de prélèvements effectués chez une larve de *M. melolontha* infectée soit par des rickettsies provenant de *Pieris brassicae*, hôte inhabituel, soit d'essais sur la sensibilité à la terramycine. Les rickettsies ayant déjà subi, ainsi, une altération dans leur pouvoir pathogène ne seraient donc plus capables de supporter une autre épreuve, telle qu'un séjour à température élevée. Ajoutons qu'en dehors des cas de rickettsiose caractérisée, nous n'avons pas noté de mortalité annexe de type bactérien au cours des différents essais sur la thermorésistance, comme c'est le cas lorsque la virulence de *R. melolonthae* se trouve amoindrie. Ce qui suggère que la réponse à la chaleur se fait par un processus de tout ou rien, sans intermédiaire : ou les conditions thermiques assurent la survie d'un nombre suffisant d'éléments pour provoquer l'infection rickettsienne chez le ver blanc, ou elles détruisent toute pathogénie et il n'y a pas de différences sensibles de mortalité entre les larves qui subissent l'injection et celles des lots témoins inoculées avec de l'eau stérile ou non traitées.

2. — Action des rayons ultraviolets

L'irradiation ultraviolette constitue une des méthodes de désinfection les plus couramment employées en microbiologie ; d'autre part, elle a été utilisée par de nombreux auteurs pour l'étude de la physiologie des germes : bactéries (MARCOVICH, 1957), champignons (MARUYAMA et HAYASKI, 1963), virus (FRIESEN, SANKOFF et SIMINOVITCH, 1963) mais aussi rickettsies (ALLEN, BOVARNICK et SNYDER, 1954), notamment au niveau de la synthèse et du rôle des acides nucléiques. Il était donc intéressant d'examiner les réactions de *R. melolonthae* à ces rayons : en particulier pour déterminer ses facultés de résistance à ce type de désinfectant et les comparer à celles présentées par d'autres rickettsies ou d'autres microorganismes entomopathogènes, les recherches sur la physiologie des rickettsies n'entrant pas dans notre programme.

L'irradiation était assurée par trois lampes de 16 watts génératrices d'ultraviolet, dites « germicides » couramment utilisées pour stérilisation de l'atmosphère, à basse tension et basse pression, émettant sur la longueur d'onde principale de 2 537 Å. Les rickettsies étaient déposées à 40 cm de ces lampes sous forme de frottis desséchés. Ces frottis étaient préparés soit à partir d'hémolymph prélevée à la pipette Pasteur stérile sur des larves de *M. melolontha* malades, soit à partir de suspensions obtenues avec le tissu adipeux et l'hémolymph d'une larve atteinte

homogénéisés dans 10 ml d'eau stérile au microbroyeur pendant 10 minutes. Après 3 passages successifs sur tube d'Allihn n° 1, n° 3 et n° 4, le filtrat est centrifugé 5 minutes à 1 500 tours/minute. La partie moyenne est soumise à 6 000 tours pendant 10 minutes et le sédiment est lavé deux fois à l'eau stérile avant d'être mis en suspension dans 2 ml d'eau. A noter qu'après 24 heures le rayonnement calorifique des lampes germicides porte la température de l'enceinte à 30°C.

Après l'irradiation, les lames étaient placées pendant 24 heures en boîte de Petri renfermant 10 ml d'eau stérile pour remise en suspension des éléments du frottis. Celle-ci était complétée par grattage de la lame avec une spatule stérilisée.

La vitalité et la virulence des rickettsies étaient appréciées par injection de la suspension ainsi obtenue dans l'hémocoel de larves saines au 3^e stade. En général, 10 L₃ étaient utilisées pour chaque traitement et les témoins comprenaient des larves non injectées, des larves injectées avec 0,1 ml d'eau stérile, et des larves injectées avec une suspension provenant d'un frottis de rickettsies non soumis aux rayons ultra violets, mais conservé à la température du laboratoire pendant le temps maximum d'exposition aux rayons des frottis étudiés. Toutes ces larves étaient mises en élevage à 24°C en boîtes individuelles selon la technique habituelle. Des contrôles hebdomadaires permettaient de suivre l'évolution des insectes et de noter les maladies et les morts. Ceux-ci faisaient l'objet d'un prélèvement d'hémolymphe et de tissu adipeux pour vérification de la présence des rickettsies à l'aide de la coloration de Macchiavello. L'incubation de la maladie étant assez lente et les premiers symptômes n'apparaissant guère avant 1 mois au plus tôt mais pouvant se manifester beaucoup plus tard, les insectes injectés étaient maintenus en observation pendant 3 à 5 mois.

Un essai préliminaire ayant montré que le frottis desséché d'une goutte d'hémolymphe pure prélevée sur un ver blanc atteint de rickettsiose conservait toute sa virulence après 24 heures d'exposition aux ultra-violets, nous avons cherché à définir l'influence respective de la durée de l'exposition et de la dilution de la préparation de rickettsie sur la résistance de ce microorganisme à l'irradiation.

Le tableau 3 résume les résultats de 11 essais effectués de septembre 1959 à septembre 1963. Il montre la grande résistance du germe considéré, qui survit plusieurs jours (jusqu'à 2 semaines parfois) à l'action des ultraviolets, même sous forme de suspensions purifiées très diluées, dans lesquelles on peut supposer que les rickettsies sont trop peu nombreuses pour que des effets d'ombrage par superposition des éléments soient très fréquents.

A défaut du dosimètre à cellule de sélénium mis au point par LATARGET, MORENNE et BERGER (1953) nous avons mesuré, à la fin de cette série d'expériences, l'énergie irradiée dans le dispositif utilisé en ayant recours à la souche K12 de *Escherichia coli* dont MARCOVICH (1957) a défini la courbe de survie en fonction de la dose de rayons UV reçus. Après dénombrement du nombre de bactéries, 2 ml de suspension ont été mis dans le fond de boîtes de Petri exposées 5, 10, 15, 20 et 25 secondes aux rayonnements de trois lampes. Après ces délais le pourcentage de survie fut estimé par comptage des colonies en culture sur bouillon. La comparaison des chiffres obtenus avec la courbe type de MARCOVICH permit d'établir à environ 8 ergs/mm²/s l'énergie reçue au niveau des boîtes de Petri. Les lampes furent remplacées par des lampes neuves qui firent l'objet du même type de mesures : l'énergie fut alors évaluée à 50 ergs/mm²/s. C'est ce nouveau taux qui correspond approximativement, compte

tenu du vieillissement rapide des lampes, aux irradiations de la deuxième série d'essais récapitulés dans le tableau 4.

De l'ensemble de cette expérimentation (tabl. 3 et 4) il ressort une variabilité des résultats assez considérable qui peut être attribuée à trois causes : l'hétérogénéité des larves injectées avec les préparations de rickettsies du fait que ces essais ont été échelonnés sur une période de 7 ans ; l'hétérogénéité de ces préparations de rickettsies pour la même raison et les modifications de puissance des lampes.

TABLEAU 3

Nombre d'insectes atteints de rickettsiose selon la durée de l'exposition aux rayons ultraviolets (10 L₃ par lot)

	1 h	2 h	4 h	8 h	24 h	2 j	4 j	8 j	16 j	Témoin non irradié	Eau stérile
Hémolymphes pure	9	9	10	7	7	4		2		6-10	0
{ pure	9	10	10	9				9		8	0
{ au 1/10	10	4	10	9				0		10	0
Hémolymphes { au 1/200					8	8	7	10	10	7	0
{ au 1/2 000					8	3	0	9	0		
{ au 1/20 000					1	0	0	9	0		
{ au 1/200 000					0	0	0	7	1	10	
Suspension purifiée						4	0	7		8	0
{ purifiée					1	0	0	0	0		
Suspension { au 1/10					0	0	0	0	0		
{ au 1/100					0	0	0	0	0		
{ au 1/1 000					0	0	0	0	0	10	
Suspension { purifiée	8	10	10	4	9	9	0	6		7	0
{ au 1/10	5	10	9	9	0	0	0	2			
{ au 1/100	7	9	1	0	0	0	3	3			
{ au 1/1 000	0	9	0	0	0	0	0	0		9	

TABLEAU 4

Nombre de larves atteintes de rickettsiose selon la durée de l'exposition aux rayons ultraviolets (10 L₃ par lot)

— 2^e série d'essais —

	7 mn	15 mn	30 mn	60 mn	2 h	4 h	8 h	24 h	Témoin non irradié	Eau stérile
Hémolymphes	9	5	8	6	6				8	0
au 1/10	7	9	7	0	1				5	
au 1/100	2	9	6	0	1					
au 1/1 000	0	6	3	0	0				6	
Suspension purif.										
au 1/10				3	7	0	0	0	7	0
au 1/100				0	0	0	0	0		
au 1/1 000				0	0	0	0	0	6	

En dépit de cette variabilité les facultés de résistance de *R. melolonthae* se manifestent tout au long de ces expériences, et l'effet protecteur soit du nombre de germes dans un volume donné, soit des constituants de l'hémolymph, cellulaires ou autres, est mis en évidence. En effet, l'irradiation ultraviolette a une action d'autant plus prononcée et plus rapide que la dilution de la préparation étalée en frottis est plus grande ; d'autre part, les suspensions purifiées sont plus sensibles que les frottis d'hémolymph, pour un même essai avec des vers blancs de même origine et la même souche de rickettsies. Naturellement, on constate une réduction sensible des délais de survie dans le tableau 4 correspondant aux expériences effectuées avec de nouvelles lampes dispersant une énergie plus importante.

D'une façon globale, on peut conclure que *R. melolonthae* même en suspension purifiée diluée est capable de survivre 1 ou 2 heures à l'irradiation ultraviolette, tandis que dans l'hémolymph sa résistance peut atteindre plusieurs jours, selon la puissance des rayons et la concentration.

Au cours de toute cette expérimentation, nous n'avons jamais noté de mortalité atypique importante lorsque la rickettsiose n'affectait que très peu de larves ou ne se déclarait pas. De même que pour la thermorésistance, l'action des UV paraît donc intervenir complètement ou pas du tout selon le temps d'irradiation, sans altération limitée de la pathogénie déterminant une mortalité sans infection par les rickettsies.

D'après ALLEN, BOVARNICK et SNYDER (1954), il en est différemment chez *R. prowazeki* dont l'exposition aux ultraviolets permet de dissocier les deux aspects du pouvoir pathogène, l'infectivité dans l'embryon de poulet qui est supprimée alors que la toxicité pour la souris peut subsister.

La résistance aux UV ainsi mise en évidence chez *R. melolonthae* différencie à nouveau la rickettsie des vers blancs des autres microorganismes du même groupe et la rapproche de *C. burneti* dont la survie est de l'ordre d'une heure (BABUDIERI, 1959), alors que *R. prowazeki* voit sa virulence considérablement atténuée après une irradiation de 1 à 4 minutes.

Par rapport aux autres types de germes entomopathogènes *R. melolonthae* témoigne d'une faible sensibilité à cette catégorie de rayonnement.

Ainsi, en utilisant le même dispositif nous avons comparé la sensibilité de *Bacillus thuringiensis* BERLINER. Des cultures sur milieu gélosé sont détruites dans des délais allant de 3 heures à 48 heures suivant la date du repiquage par rapport à l'exposition aux rayons, c'est-à-dire suivant la proportion de spores. Une suspension en eau stérile préparée à partir d'une culture de 48 heures sur gélose nutritive est stérilisée au bout de 2 heures de séjour dans l'enceinte utilisée.

Ces chiffres sont en accord avec les conclusions des essais de VAGO et M. C. BUSNEL (1952) sur la destruction de différents microorganismes entomopathogènes (8 espèces de champignons, 8 espèces de bactéries, 3 espèces de virus), après 17 heures d'irradiation à 2 537 Å, même pour les formes sporulées.

Si les spores de *Bacillus popilliae* « *Melolontha* » supportent sans dommages 2 heures d'irradiation (HURPIN, 1967) le *Vagoiavirus melolonthae* est inactivé au bout de 30 secondes d'exposition aussi bien en suspension que sur lame (ROBERT, 1969). Rappelons également que le virus de la psittacose est détruit après 30 minutes et que le virus de la jaunisse du Ver à soie est totalement inactivé après 60 minutes

(AIZAWA, 1955), alors que quelques minutes suffisent pour les polyèdres nucléaires de *Trichoplusia ni* (JACQUES, 1968). Quant à la granulose de *Pieris brassicae*, inhibée en moins d'une demi-heure sous forme de suspension purifiée en couche mince, elle résiste 2 heures sous forme de frottis desséchés d'hémolymphes à 2 537 Å sous 50 μ W/cm² (DAVID, 1969).

3. — Action des antiseptiques et du pH

Pour préciser les propriétés de résistance de *R. melolonthae* nous avons étudié le maintien de la virulence après contact avec les principaux produits chimiques utilisés comme antiseptiques, auxquels nous avons adjoint l'éther éthylique, qui est connu comme rickettsicide par dissolution des lipoides de la membrane (ZDRODOVSKII et GOLINEVICH, 1960) et, en complément, examiné le comportement de ce germe dans les solutions tampon à différents pH.

a) Étude de quelques antiseptiques.

Les essais ont, en général, été effectués avec une suspension préparée par broyat et filtration de tissu adipeux et d'hémolymphes de larves malades. 0,5 ml de cette suspension fut ajouté à 9 ml de la substance à éprouver, au titre désiré (phénol à 1 p. 100 par exemple). Pour l'éther la méthode utilisée a été celle de ANDREWES et HORSTMANN (1949) pour les virus de Vertébrés : 10 ml d'éther pur ont été versés dans 9 ml d'eau stérile de façon à obtenir une solution saturée avec excès d'éther.

TABLEAU 5

Cas de rickettsioses après injection à 10 L₃
d'un mélange de *R. melolonthae* et d'un antiseptique

Nature de l'antiseptique	Durée du contact avant l'injection					
	15 mn	30 mn	45 mn	60 mn	2 heures	24 heures
Éther éthylique à { 7,5 % ...	(0) *	(0)	—	(0)	(0)	—
7,5 % ...	1	0	1	1	0	4
Alcool éthylique à { 100° ...	0	0	0	0	0	0
100° ...	(0)	(0)	—	(0)	(0)	—
70° ...	7	4	6	6	6	5
50° ...	3	4	5	5	6	2
Acide acétique à { 2 % ...	9	9	9	8	7	8
1 % ...	8	9	10	8	6	8
Acide chlorhydrique à { 10 %	0	0	0	0	0	0
1 %	9	8	2	1	2	0
Aldéhyde formique à 1 % ...	9	8	10	8	5	6
Hypochlorite de Na à 2 % ..	0	0	1	0	0	0
Bichlorure de Hg à 0,1 % ...	5	2	0	0	0	0
Permanganate de K à 1 % ..	3	6	2	1	0	0
Phénol à 2 %	4	9	7	0	0	0
Eau oxygénée à 1 %	6	9	6	9	9	8
Soude à 1 %	9	10	10	6	9	7
Potasse à 1 %	10	9	10	6	10	7

(*) Les chiffres entre parenthèses correspondent à des essais par ingestion forcée.

mélange fut laissé au repos à la température du laboratoire pendant un temps allant de 15 minutes à 24 heures avant d'être dilué d'environ 10 fois avec de l'eau stérile et injecté à la dose de 0,1 ml par insecte dans la cavité générale de 10 vers blancs du 3^e stade. Simultanément l'injection de l'antiseptique seul à la même concentration avait pour but de vérifier l'innocuité du produit considéré à l'égard de la larve du Hanneçon. Le tableau 5 récapitule les cas de rickettsiose enregistrés.

Ce tableau montre que *R. melolonthae*, de même que les autres rickettsies ne supporte pas le traitement à l'éther, ni à l'alcool absolu, et par suite on peut supposer que sa composition chimique, en particulier au niveau de la membrane, est analogue à celle des autres microbes du groupe.

Sinon, l'agent de la rickettsiose des *Melolontha* fait preuve à nouveau d'une grande résistance à de nombreux antiseptiques : des produits tels que l'eau oxygénée, le formol, l'acide acétique, la soude, la potasse, l'alcool dilué sont sans effet même après un contact de 24 heures ; d'autres, tels que le phénol, le permanganate ou le sublimé n'altèrent la virulence de la suspension qu'au bout d'une heure. Seuls l'alcool éthylique concentré, l'acide chlorhydrique peu dilué et l'hypochlorite de sodium (eau de Javel) inhibent cette rickettsie à bref délai.

En dehors de la mortalité due à l'infection rickettsienne, il ne paraît pas exister de relation entre la nature et la durée d'action du produit et le nombre de vers blancs dont les cadavres sont l'objet d'une prolifération bactérienne.

Dans le cas des antiseptiques comme lors de l'irradiation ultraviolette ou de la stérilisation par la chaleur, il n'y a donc pas de phénomène d'enchaînement lié à une atténuation de la virulence de la rickettsie à la suite du traitement ou aux effets toxémiques.

Ces données sont confirmées par les résultats d'expériences complémentaires portant sur deux antiseptiques, dont nous voulions préciser les propriétés à l'égard de la rickettsie étudiée : le formol et l'eau de Javel (hypochlorite de soude). Les chiffres du tableau 6 sont en accord avec ceux du précédent et mettent en évidence l'inactivité du formol, aussi bien sous forme liquide ajoutée à une suspension de rickettsies que sous forme de vapeurs saturant une enceinte où des frottis d'hémo-lympe malade sont exposés. Par contre l'eau de Javel s'est révélée un bon désinfectant.

TABLEAU 6

Action du formol et de l'hypochlorite (10 L₃ injectées par essai)

Antiseptique	Durée contact	Cas de rickettsiose
Solution formol à 4 %	15 mn	5
"	30 mn	4
Vapeurs formol à 30 %	2 j	1
"	4 j	6
"	8 j	6
Hypochlorite à 5 %	1 h	0
"	2 h	0
"	4 h	0
Hypochlorite à 10 %	1 h	0
"	2 h	0
"	4 h	0

L'action très limitée des antiseptiques sur *R. melolonthae* distingue à nouveau celle-ci des autres rickettsies dont la plus résistante de l'avis de tous les auteurs est *C. burneti*. Or l'agent de la maladie bleue des *Melolontha* apparaît moins sensible aux antiseptiques examinés que l'agent de la fièvre Q. Celui-ci est détruit en quelques heures par le formol ou le phénol à 1 p. 100 et en moins d'une heure par l'acide chlorhydrique à 0,5 p. 100 ou la soude à 1 p. 100 ; l'alcool à 70° ou l'éther le tuent en quelques minutes, d'après les auteurs cités par ZDRODOVSKII et GOLINEVICH (1960), tandis que le pouvoir pathogène des autres rickettsies telles que *R. prowazeki* ou *R. mooseri* est annihilé très facilement : 5 minutes au contact du phénol ou du lysol à 0,5 p. 100, 30 minutes en présence de formol à 0,5 p. 100.

b) Influence du pH.

La survie de *R. melolonthae* dans une suspension traitée à la soude ou à la potasse à 1 p. 100 aussi bien qu'en présence d'acide acétique ou chlorhydrique témoigne d'un large spectre de pH susceptibles d'être supportés par ce microorganisme. Nous avons cherché à délimiter l'étendue de ce spectre en ajoutant à une suspension préparée par filtration et purification d'un broyat de tissu adipeux de 1 I₃ malade des solutions tampon de différents pH depuis pH = 3 jusqu'à pH = 10. A 5 ml de tampon étaient ajoutés 5 gouttes de suspension de rickettsies (pH = 6,2).

Deux expériences ont été conduites parallèlement avec des lots de 12 I₃ : dans l'une le contrôle de la virulence du mélange suspension + tampon, laissé en contact en laboratoire pendant des délais allant de 15 minutes à 2 heures, fut effectué par injection de 0,1 ml de ce mélange dans la cavité générale, dans l'autre par ingestion forcée. Comme de coutume, la nature des germes présents dans les malades ou les morts fut contrôlée. Le tableau 7 présente les résultats enregistrés. Il montre une tolérance exceptionnelle de *R. melolonthae* au pH en milieu liquide puisque seul un pH très acide (pH = 3) pendant un temps assez long (30 minutes) est incompatible avec la survie. Aux pH élevés, jusqu'à 10, cette rickettsie a une virulence analogue à celle notée en milieu neutre. Dans les deux cas la différence du nombre de malades par injection et par ingestion forcée est analogue et est liée à la quantité minimale de germes nécessaire pour assurer l'infection.

Rappelons que *R. prowazeki* ne survit qu'une heure à pH = 6,4, tandis que pour *C. burneti* l'optimum est à pH = 8 (ZDRODOVSKII et GOLINEVICH, 1960).

4. — Action de l'acide para aminobenzoïque

Dans la thérapeutique des rickettsioses, l'acide para aminobenzoïque fut le premier médicament donnant des résultats positifs, en particulier dans le traitement des typhus. Par contre l'agent de la fièvre Q ne paraît pas affecté par cette vitamine, qui aurait pour effet d'inhiber le développement des rickettsies dans les cellules-hôtes dont les réactions se traduisent par une augmentation de la respiration (GREIFF et PINKERTON, 1948).

Nous avons examiné l'effet de cet acide sur *R. melolonthae* en ajoutant à la même suspension de rickettsies que celle utilisée pour les essais sur l'action des antiseptiques par ingestion forcée, des doses croissantes, agissant pendant 20 minutes à la température du laboratoire ; délai après lequel il fut procédé à l'injection intracœlomique du mélange à 12 larves du troisième stade. Au préalable la toxicité de

TABLEAU 7
Action du pH du milieu (*)

pH	Nombre de malades ou de morts par injection après :					Nombre de malades ou de morts par ingestion forcée après :				
	15 mn	30 mn	60 mn	120 mn		15 mn	30 mn	60 mn	120 mn	
3	11 <i>1</i>	0 <i>1</i>	0 <i>3</i>	3 <i>3</i>		0 <i>2</i>	0 <i>1</i>	0 <i>1</i>	0 <i>1</i>	
4	10 <i>2</i>	9 <i>3</i>	10 <i>2</i>	11 <i>1</i>		4 <i>8</i>	4 <i>8</i>	5 <i>6</i>	3 <i>9</i>	
5	10 <i>2</i>	11 <i>1</i>	11 <i>1</i>	9 <i>3</i>		1 <i>11**</i>	3 <i>9</i>	4 <i>8</i>	4 <i>6</i>	
6	9 <i>3</i>	10 <i>2</i>	11 <i>1</i>	12 <i>0</i>		2 <i>10</i>	4 <i>8**</i>	4 <i>8</i>	2 <i>10**</i>	
7	10 <i>2</i>	12 <i>0</i>	6 <i>6</i>	7 <i>5</i>		2 <i>10</i>	2 <i>10</i>	2 <i>10</i>	1 <i>11</i>	
8	10 <i>2</i>	11 <i>1</i>	7 <i>5</i>	10 <i>2</i>		3 <i>9</i>	4 <i>8</i>	1 <i>11</i>	2 <i>10</i>	
9,2	10 <i>2</i>	10 <i>2</i>	11 <i>1</i>	9 <i>3</i>		2 <i>10</i>	3 <i>9</i>	3 <i>9</i>	2 <i>9</i>	
10	9 <i>3</i>	12 <i>0</i>	12 <i>0</i>	11 <i>1</i>		2 <i>10</i>	2 <i>10</i>	1 <i>11</i>	1 <i>10</i>	
Suspension Rickettsie Témoin					11 <i>1</i> <i>0</i> <i>3</i>					2 <i>10</i> <i>0</i> <i>2</i>
3	11 <i>1</i>	11 <i>1</i>	1 <i>4</i>	6 <i>6</i>		1 <i>5</i>	0 <i>1</i>	0 <i>1</i>	0 <i>3</i>	
Susp. Ricket. T. M. melolontha	(0-4)				11		(0-3)			0 <i>12</i>

* Les chiffres romains correspondent au cas de rickettsiose, les chiffres en italique à une autre mortalité.

** Ingestion forcée (3 fois) broyats 4, 5 ou 6 L₃ malades divers à 6 L₃ → 3 fois 0 rickettsie et 1 divers.

l'acide para aminobenzoïque pour le ver blanc avait été contrôlée par injections de solutions de cet acide dans l'alcool à 20°C : aucune mortalité ne fut constatée pour des doses allant de 0,02 mg à 2 mg de produit par larve alors que l'injection de 25 mg tue le ver blanc. Le tableau 8 indique que *R. melolonthae* n'est pas sensible à l'acide para aminobenzoïque, de la même façon que *C. burneti*.

Ces résultats sont confirmés par ceux obtenus à la suite de l'inoculation de cette substance à des vers blancs ayant subi 3 jours auparavant une injection de rickettsies. 14 larves ainsi infectées subirent une injection intra-lymphale de 0,1 ml d'acide para aminobenzoïque à 5 p. 100 3 jours après, 14 autres larves du même lot furent traitées une deuxième fois 4 jours après avec le produit à 2,5 p. 100, de façon à limiter les effets nocifs à l'égard des insectes considérés. Dans les 2 séries la rickettsiose se manifesta en 2 à 4 mois environ chez 50 p. 100 des individus (7 dans la série traitée une seule fois, 6 dans la série à deux injections d'acide para aminobenzoïque).

TABLEAU 8

Cas de rickettsiose par injection de suspension traitée à l'acide para aminobenzoïque

Traitement	L ₃ injectées	Nombre de malades
Suspension Rickettsie	10	10
Suspension + acide APAB à 1 %	12	12
Suspension + acide APAB à 5 %	12	9
Suspension + acide APAB à 25 %	12	10

5. — *Sensibilité aux antibiotiques et sulfamides*a) *Action des sulfamides.*

Ce groupe de médicaments a été expérimenté avec des succès très divers pour traiter les rickettsioses (GIROUD et DUMAS, 1958 ; NICOLAU et CONSTANTINESCU, 1965). Nous avons fait quelques essais avec deux sulfamides : l'adiazine (à base de sulfadiazine) et l'exoseptoplix (à base de sulfanilamide) pour éprouver le comportement de la rickettsie du ver blanc à l'égard de ce type de substance. Dans chaque cas deux doses de sulfamide ont été ajoutées à une suspension de rickettsies, laissées en contact à la température du laboratoire pendant 24 heures avant l'injection intralymphale à des larves du troisième stade. Ces doses correspondaient à 1 et 5 mg de sulfamide par individu, concentration dont l'innocuité à l'égard des vers blancs avait été vérifiée auparavant. Le tableau 9 montre que *R. melolonthae* n'est pas sensible à ces sulfamides, même aux concentrations les plus élevées, qui ont fait l'objet de deux essais.

TABLEAU 9

Action de deux sulfamides sur R. melolonthae (10 L₃ par essai)

Sulfamide	Dose/L ₃ µg	Cas de rickettsiose	Autre mortalité
Adiazine + suspension rickettsie	1 000	4	6
Adiazine + suspension rickettsie	5 000	8-8	2-2
Exoseptoplix + suspen- sion rickettsie	1 000	8	2
Exoseptoplix + suspen- sion rickettsie	5 000	9-8	1-2
Suspension rickettsie	—	8	1

b) *Action des antibiotiques du type pénicillines-tétracyclines.*

C'est depuis la découverte des antibiotiques qu'il est possible de traiter rationnellement les rickettsioses humaines et animales en ayant recours aux divers représentants du groupe des tétracyclines ou au chloramphénicol. Par contre les antibiotiques du type pénicilline ou streptomycine se sont révélés inefficaces.

Nous nous sommes donc proposés de vérifier si *R. melolonthae* présentait le même spectre de sensibilité, à la fois pour juger de ses propriétés dans ce domaine et pour déterminer quel produit serait susceptible d'inhiber le développement de cette rickettsie, à des fins d'hygiène, de désinfection ou de sélection expérimentale de germes.

Dans un premier temps nous avons étudié les antibiotiques les plus classiques appartenant aux deux catégories à l'égard desquelles les rickettsies en général ont des réactions opposées : le groupe pénicilline-streptomycine et le groupe tétracycline-chloramphénicol.

Faute de pouvoir employer les deux méthodes classiques en bactériologie pour les antibiogrammes : dilution en milieu liquide ou solide, diffusion sur gélose à partir de disques, puisqu'on ne dispose pas de milieu de culture artificiel, bien que des essais *in vitro* sur cultures de tissu soient parfois réalisés (SAVITSKAYA, 1963), quatre techniques ont été utilisées parallèlement :

1° Mélange de l'antibiotique considéré avec une suspension de rickettsies (hémolymphe au 1/200 dans l'eau stérile ou suspension purifiée) et injection intrahémocœlienne de ce mélange à des larves de *M. melolontha* L. après 30 minutes, 1 heure, ou 24 heures, de contact à l'obscurité à la température du laboratoire. Une technique semblable a été employée pour l'étude de l'action des tétracyclines sur les propriétés hémolytiques de l'agent des typhus (SNYDER, BOVARNICK, MILLER et SHIH MAN CHANG, 1954), ou de sa toxicité pour la souris blanche (KARP et SNYDER, 1952).

2° Injection de l'antibiotique dans l'hémocœle de vers blancs 15 à 20 minutes avant l'injection des rickettsies, selon une méthode utilisée pour la détermination de l'action médicamenteuse de nombreux composés chimiques sur le développement de *R. mooseri* dans l'embryon de poulet (ROBBINS, BOURKE et SMITH, 1950).

3° Injection de l'antibiotique dans la cavité générale des vers blancs 5 jours après la contamination par la rickettsie, procédé inspiré des essais sur l'activité rickettsiostatique de l'acide para aminobenzoïque vis-à-vis de *R. prowazeki* (WEISS, DRESSLER et SUTOR, 1957) dans l'embryon de poulet et des études de ORMSBEE, et PICKENS (1955) sur l'action de divers antibiotiques sur différentes rickettsies.

4° Injections répétées, à quelques jours d'intervalle, de l'antibiotique après la rickettsie : 3 injections tous les 3 jours ou 5 injections tous les 2 jours, technique expérimentée (GRIEFF, PINKERTON et MORAGUES, 1944) pour l'examen de l'influence de diverses substances sur la multiplication de *R. prowazeki* et *R. mooseri* dans le sac vitellin de l'œuf de poule.

L'efficacité de la dose considérée était évaluée d'après la morbidité et la mortalité obtenues dans des lots de 10 *L.*, maintenues en élevage individuel pendant 3 à 5 mois, avec contrôle microscopique de la présence des éléments rickettsiens dans le tissu adipeux et l'hémolymphe des insectes.

Les résultats des 50 essais ainsi réalisés ont été présentés précédemment (HURPIN, 1965). Quelque soit le mode de traitement et malgré les fortes doses utilisées,

jusqu'à 300 fois les doses employées en médecine, *R. melolonthae* s'est montrée résistante non seulement à la pénicilline et à la streptomycine mais aussi aux tétracyclines expérimentées : auréomycine, spiramycine, terramycine ainsi qu'au chloramphénicol. Seule, la dihydrostreptomycine a eu un effet inhibiteur dans les deux cas où nous l'avons mise à l'épreuve, pour une raison encore inconnue. La sensibilité à cet antibiotique paraît propre au genre *Rickettsiella*, puisque DUTKY (1959) a déjà indiqué que *R. popilliae* DUTKY ne se développait pas, également, en présence de dihydrostreptomycine, mais pour des doses (20 µg par larve) beaucoup plus faibles que dans le cas de la rickettsiose des *Melolontha*. Le groupe des streptomycines a toutefois une action sur les délais de développement de l'infection, car les symptômes typiques de la maladie ne se manifestent qu'au bout de 3 mois environ, à 25°C, au lieu de 2 mois chez les larves traitées à la terramycine et 6 semaines chez les témoins. Ce qui atteste une certaine sensibilité de *R. melolonthae*. Un tel retard dans l'évolution de l'affection est parfois enregistré en médecine : dans le cas de la pénétracyne chez des souris blanches infectées par *R. prowazeki* ou *R. tsutsugamushi*, par exemple (GIROUD et CAPPONI, 1963).

De même que dans la plupart des essais sur la résistance de ce germe, il ne fût pas noté au cours des recherches sur les antibiotiques de mortalité atypique, sans prolifération des rickettsies. Cependant, aux très fortes doses (20 000 unités de pénicilline, 10 000 µg de streptomycine, 5 000 µg d'auréomycine ou de terramycine, par ver blanc) ces substances eurent un effet toxique et provoquèrent une mortalité, le plus souvent totale, dans les jours qui suivirent l'injection.

Toutefois, chez certains insectes traités à la terramycine une infection rickettsienne fût mise en évidence soit par coloration au Macchiavello de frottis d'hémolymphe soit en microscopie électronique, alors qu'ils ne présentaient pas les symptômes de la rickettsiose mais au contraire constituaient des cas typiques de « maladie transparente » (HURPIN et VAGO, 1961). Cette affection reconnue à diverses reprises chez les vers blancs se traduit par le remplacement du tissu adipeux par un abondant liquide plus ou moins limpide donnant un aspect transparent aux larves. Une étiologie virale à *Moratorvirus lamellicornium* a été signalée par KRIEG et HUGER (1960) pour cette maladie. Il semble d'après nos observations qu'elle ne corresponde pas à un phénomène général et qu'une rickettsiose peut évoluer vers les mêmes symptômes lorsque des agents perturbateurs tels que certains antibiotiques modifient les conditions de la pathogenèse (HURPIN et VAGO, 1961).

R. melolonthae se distingue de *R. grylli* en matière de sensibilité aux antibiotiques. En effet, d'après MARTOJA (1966), la rickettsie des grillons est inhibée par l'auréomycine, la terramycine, la tétracycline et l'érythromycine soit chez des insectes nouveaux-nés infectés nourris de farine additionnée de l'antibiotique tous les deux jours, soit chez des nymphes malades auxquelles le produit est administré par la même voie. Par contre, il semble que *R. popilliae* ait les mêmes réactions que la rickettsie du Hanneton, d'après DUTKY (1959).

c) Action d'autres antibiotiques.

L'action des principaux antifongiques a été étudiée par la même méthode : contact pendant 24 heures, à la température du laboratoire et à l'obscurité, de chaque produit ajouté à la concentration désirée, à une suspension de rickettsies préparée

TABLEAU 10

Action de quelques antifongiques sur R. melolonthae (10 L₃ par essai)

Produit	Dose/L ₃ (μ g)	Morts Témoin (produit seul)	Mortalité chez les traités		TL 50 Rickettsiose (semaines)
			Rickettsiose	Autre	
Actidione	500	—	5	5	5
	2 000	4	2	8	5
Griséofulvine	10	5	5	5	5
Mycostatine	210	—	4	6	5
	1 000	5	0	10	—
Rickettsie seule			4	6	5

TABLEAU 11

Sensibilité de R. melolonthae à divers antifongiques et antibiotiques

Produit	a) Injection 10 L ₃ par essai			
	Dose/L ₃ en μ g	Morts témoin (Produit seul)	Mortalité chez les traités	
			Rickettsiose	Autre
Actidione	1 000	1	9	1
Griséofulvine	30	2	8	2
Soframycine	200	3	6	4
Viomycine	2 000	4	9	1
Rifampicine	3 000	2	10	0
(Rickettsie seule)	—	—	9	1
	b) Ingestion forcée 10 L ₃ par essai			
	Dose/L ₃ en μ g	Morts témoin (Produit seul)	Mortalité chez les traités	
			Rickettsiose	Autre
Actidione	2 000		6	4
Mycostatine	1 000		6	4
	1 500		4	6
Érythromycine	2 000		9	1
	4 000		9	1
Kanamycine	2 500		5	5
	5 000		8	2
Néomycine	2 500		6	4
	5 000		7	3
Trichomycine	1 000 μ		7	3
	2 000 μ		3	7
(Rickettsie seule)	—		5	5

par broyat, filtration sur tube d'Allihn, centrifugation d'un prélèvement de tissu adipeux de ver blanc malade. Le lendemain, il est procédé à l'injection de 0,1 ml de mélange à chaque larve d'un lot de 10 L₃ par produit.

Les vers blancs utilisés se révélèrent contaminés par la mycose à *Beauveria* qui fut à l'origine d'une importante mortalité dans tous les cas. La plupart des insectes qui ne furent pas tués par le champignon moururent de rickettsiose (tabl. 10), témoignant ainsi de la non sensibilité de *R. melolonthae* aux antifongiques considérés.

Pour vérifier ce résultat une deuxième série d'essais fut entreprise selon les mêmes modalités en comparant à 3 antifongiques 7 antibiotiques nouveaux appartenant soit au groupe des néomycines (néomycine, soframycine, kanamycine) dont le spectre est plus étendu que celui des pénicillines et tétracyclines puisqu'il intéresse à la fois les bactéries Gram +, les Gram — et les mycobactéries, soit à des types d'antibiotiques d'affinités particulières tels que la trichomycine antagoniste des levures et de quelques protozoaires (*Trichomonas*) ou la viomycine bactériostatique à l'égard de bactéries très diverses (HAGEMANN, 1963) et parmi lesquels la rifampicine est douée de propriétés inhibitrices à l'égard des *Pox-virus*, notamment (HELLER *et al.*, 1969).

Après 24 heures de contact le mélange suspension de rickettsies + antibiotique fut injecté dans l'hémolymph de 10 larves du troisième stade pour les produits qui s'étaient montrés non toxiques par cette voie lors d'essais préalables ; pour les autres on eut recours à l'injection intraoesophagienne. Les doses furent prises aussi élevées que possible en fonction soit de la solubilité de l'antibiotique en milieu aqueux soit de sa toxicité pour *M. melolontha*. Le tableau 11 fait apparaître à nouveau l'absence d'activité antirickettsienne des antagonistes microbiens expérimentés : dans tous les cas la maladie s'est développée et le plus souvent dans des délais analogues à ceux nécessaires pour l'évolution de la rickettsiose chez les témoins, contaminés par la rickettsie seule.

6. — Conclusion

L'ensemble de ces épreuves à la température, aux antiseptiques et aux antibiotiques fait ressortir les capacités de résistance considérables du germe étudié. Sa thermorésistance est du même ordre de grandeur que celle des spores bactériennes et ses possibilités de survie à l'irradiation ultraviolette beaucoup plus élevées que celles des autres rickettsies et de la plupart des microorganismes, bien qu'elles soient fonction du nombre de germes par unité de volume et de la présence ou non d'éléments protecteurs (hémocytes par exemple). Ces facultés de résistance sont constatées également à l'égard des antiseptiques puisque *R. melolonthae* se montre encore moins sensible que *C. burneti* à des substances telles que le phénol, le permanganate ou l'eau oxygénée. Par contre, elle ne supporte pas l'eau de javel ou l'acide chlorhydrique et, de la même façon que les autres rickettsies, elle est détruite par l'éther éthylique. Il semble que les propriétés inhibitrices de l'acide chlorhydrique soient dues à l'ion Cl^- plutôt qu'au pH, puisque la virulence de *R. melolonthae* n'est pas altéré à $\text{pH} = 4$, (pas plus qu'à $\text{pH} = 10$).

Nous retrouvons certaines analogies avec *C. burneti* en ce qui concerne le comportement à l'égard de l'acide para aminobenzoïque, vitamine utilisée dans la lutte contre le typhus alors qu'elle n'a pas d'action contre la fièvre Q. Mais *R. melolonthae* se distingue de toutes les autres rickettsies par sa résistance aux sulfamides et surtout à des antibiotiques dont les spectres d'action dans le monde microbien sont aussi divers que les pénicillines spécifiques des staphylocoques et streptocoques, les tétra-

cyclines actifs contre les rickettsioses de Vertébrés, les substances antifongiques, la viomycine à affinités antilevures et antiprotozoaires, les néomycines qui agissent à la fois sur les bactéries Gram + et les Gram —.

Il reste à déterminer les causes physiologiques de cette résistance vraisemblablement liée à la structure physicochimique de la membrane de ce microorganisme, et que cette propriété rapproche des virus.

II. — CONSERVATION DE LA VIRULENCE

Les essais destinés à estimer la capacité de survie et de maintien de la virulence de ce germe ont été réalisés en plaçant à plusieurs températures des rickettsies contenues dans divers milieux ou sous différents modes de présentation, afin d'apprécier en fonction du temps le rôle respectif de la température et des modalités de conservation sur les propriétés considérées.

La matière active consistait soit en prélèvement d'hémolymphes ou de tissu adipeux de larve malade, soit en cadavre d'insectes atteints. Nous avons ainsi comparé les résultats obtenus avec les frottis d'hémolymphes desséchés, l'hémolymphes infectée en effilure de pipette Pasteur, les suspensions purifiées, les lyophilisats, les cadavres broyés et mis en suspension, les cadavres non broyés, et des substrats contaminés.

Les contrôles ont été effectués périodiquement en procédant surtout par ingestion forcée à des larves du 3^e stade de prélèvements de ces différents types de conservation. En complément, des injections intralymphales ont été pratiquées dans le cas des lyophilisats et des suspensions purifiées. Pour évaluer l'activité des rickettsies incorporées aux substrats, des larves saines ont été mises en élevage dans ces milieux après les différents laps de temps retenus pour l'expérimentation.

I. — *Influence de la dessiccation et de la température*

— Les frottis d'hémolymphes sur lames ont été placés à l'obscurité à 4 températures : 20°, 2°, — 8° et — 20°C. Afin de mettre en évidence une éventuelle action de la concentration des rickettsies sur leur résistance deux types de frottis ont été préparés : l'un par étalement d'une goutte d'hémolymphes pure par lame, l'autre à partir de la même hémolymphes diluée 20 fois. En fait on n'enregistra pas de différences sensibles entre les deux quant aux facultés de conservation.

L'examen de la virulence après chaque délai a été opéré en plaçant les frottis dans une boîte de Petri renfermant 10 ml d'eau stérile pendant une nuit, dans le but de décoller la pellicule d'hémolymphes desséchée, dont la mise en suspension était améliorée par grattage de la lame à l'aide d'une pipette Pasteur. 0,1 ml de cette suspension était alors injecté dans la cavité générale ou dans l'œsophage de *I.*, à raison de 10 insectes par lot.

— Les pipettes Pasteur, constituées par de petites ampoules d'environ 0,3 cm³ de capacité, ont été remplies stérilement par piqûre du tégument d'un ver blanc malade et aspiration de l'hémolymphes, puis scellées à la flamme et placées au réfri-

gérateur à $+ 2^{\circ}\text{C}$. Les épreuves d'activité ont été faites à partir de la deuxième année, à la fois par injection dans la cavité générale et par ingestion forcée, après avoir dilué le contenu de l'ampoule dans 10 ml d'eau stérile.

— Les suspensions purifiées, obtenues à partir du tissu adipeux et d'hémolymphe de larve vivante atteinte de rickettsiose, ont été mises en flacon de 20 ml, à deux températures : $+ 2^{\circ}\text{C}$ et $- 8^{\circ}\text{C}$. Elles ont été ensuite contrôlées par inoculation intracœlomique et par ingestion forcée.

Les tableaux 12, 13, 14 résument les informations fournies par ces expériences. Ils montrent que *R. melolonthae* se conserve beaucoup mieux en milieu liquide que dans les frottis desséchés et que les basses températures sont favorables au maintien de la virulence.

Ainsi, par exemple, l'hémolymphe desséchée après 9 mois à $+ 2^{\circ}$ n'est plus capable de provoquer l'infection rickettsienne. Seule une mortalité atypique avec prolifération bactérienne intervient encore, alors qu'en pipette Pasteur à la même température elle détermine la rickettsiose caractéristique au bout de 4 ans, et après 7 ou 9 ans son injection dans la cavité générale de vers blancs entraîne une mortalité de type bactérien, dont les données des tableaux concordent pour attribuer la cause à l'inoculation de rickettsies affaiblies par un séjour prolongé dans des conditions non optimales.

L'effet des basses températures apparaît dans le tableau 12 : après 6 mois à la température du laboratoire, les frottis d'hémolymphe ne sont plus infectieux, aussi bien pour le développement de la rickettsiose que sous l'aspect maladie atypique, tandis qu'à $- 20^{\circ}$ le pouvoir pathogène subsiste encore au bout de 6 ans. Par contre, la lyophilisation assure une conservation de la rickettsie de *Melolontha*, comme l'atteste une série d'essais effectués à partir d'hémolymphe lyophilisée en avril 1960 et gardée à l'obscurité en laboratoire en tubes scellés. L'injection, dans l'œsophage ou dans l'hémocœle de 10 vers blancs sains, de 0,1 ml de la suspension provenant de l'addition de cette poudre lyophilisée à 10 ml d'eau stérile, opérée après 2, 3, 4, 5 et 6 ans, a provoqué chaque fois la rickettsiose chez la plupart des insectes traités (de 5 à 9 sur 10).

2. — Influence du milieu renfermant les rickettsies

Elle a été examinée en comparant les possibilités de survie notées dans les essais précédents avec les facultés de conservation offertes par le maintien à basse température (pour limiter les fermentations d'origine bactérienne) de cadavres et de leur broyat dans l'eau.

Les larves tuées par *R. melolonthae* ont été disposées individuellement dans des tubes en polystyrène fermés par un tampon de coton cardé à : $+ 2^{\circ}$, $- 8^{\circ}$ et $- 20^{\circ}\text{C}$ d'une part ; d'autre part, un essai a été effectué à deux températures plus élevées : $+ 13^{\circ}$ et $+ 20^{\circ}\text{C}$. Les broyats ont été préparés par passage au mixeur dans 100 ml d'eau de 15 cadavres pendant quelques minutes et répartis en flacons de polyéthylène à $- 8^{\circ}\text{C}$.

Les suspensions ainsi obtenues et celles qui ont été constituées à partir des cadavres prélevés périodiquement pour les contrôles et agités pendant 5 minutes dans un flacon de verre renfermant 10 ml d'eau et des billes de verre, ont été utilisées

TABLEAU 12

Conservation de frottis d'hémolymphe desséchés. Mortalité en fonction durée du séjour aux différentes températures

Température	Concentration	Mortalité en fonction durée de séjour aux différentes températures											
		3 mois		6 mois		9 mois		2 ans		3 ans		6 ans	
		Rick.	Autre	Rick.	Autre	Rick.	Autre	Rick.	Autre	Rick.	Autre	Rick.	Autre
Labo.	D	(5)-5	(5)-4	0	2	0	1	(0)	(0)	1-0	2-1	(0)	(4)
	D/20	0	5	0	3	0	2	—	—	—	—	(0)	(4)
+ 2°	D	3	6	5	3	0	10					(0)	(3)
	D/20	0	1	0	2	2	1					(0)	(2)
— 8°	D	1	6	2	1	0	2					(0)	(2)
	D/20	0	3	0	4	0	4					(0)	(3)
+ 20°	D	1	9	5	5	9	1					(2)	(4)
	D/20	1	9	5	3	3	3					(0)	(5)

Les chiffres entre parenthèses correspondent aux injections intralymphales.

TABLEAU 13

Conservation d'hémolymphe en pipette Pasteur. Mortalité en fonction durée du séjour aux différentes températures

Température	2 ans		3 ans		4 ans		5 ans		6 ans		7 ans		8 ans		9 ans		10 ans	
	Rick.	Autre	Rick.	Autre	Rick.	Autre	Rick.	Autre	Rick.	Autre	Rick.	Autre	Rick.	Autre	Rick.	Autre	Rick.	Autre
+ 2°	6	0		(4)	(4)0	(0)4	0-0	3-6	(0)0	(10)2	(0)0	(8)1			(0)(0) 0-0	(9)(3) 3-2	0	1

TABLEAU I4

Conservation de broyats de larves. Mortalité en fonction durée du séjour

Température	2 mois 1/2		3 mois		6 mois		1 an		2 ans		3 ans		4 ans		5 ans		9 ans	
	Rick.	Autre	Rick.	Autre	Rick.	Autre	Rick.	Autre	Rick.	Autre	Rick.	Autre	Rick.	Autre	Rick.	Autre	Rick.	Autre
+ 2°	(0)(3)	(2)(6)	(3)	(7)	7	2	1	4	5	5	5-2	2-7	—	—	—	—	0	0
— 8°	—	—	0	4	—	—	(5)	(3)	—	—	5-9	5-1	0-9	6-1	2	4	—	—

TABLEAU I5

Conservation de suspensions purifiées malades. Mortalité en fonction durée du séjour

Température	2 ans		3 ans		4 ans		5 ans		6 ans		7 ans		8 ans		9 ans		10 ans	
	Rick.	Autre	Rick.	Autre	Rick.	Autre	Rick.	Autre	Rick.	Autre	Rick.	Autre	Rick.	Autre	Rick.	Autre	Rick.	Autre
— 8°	2	8	1.4.9	9-6-1	—	—	7-7	3-2	6	4	2-3	7-5	0	8	(0)-4-1	(0)-6-1	4	6

TABLEAU 16

Conservation des cadavres de larves atteintes de rickettsiose
Mortalité en fonction durée de séjour

1. A + 13° et + 20° C.

Température	1 mois		2 mois		3 mois		6 mois		8 mois		12 mois	
	Rick.	Autre	Rick.	Autre	Rick.	Autre	Rick.	Autre	Rick.	Autre	Rick.	Autre
13°	1	9	2	8	2	1	0	1	0	2	0	0
20°	5	3	1	3	2	3	0	1	0	3	0	0

2. A basses températures

Température	9 mois		1 an		2 ans		4 ans		5 ans		7 ans		8 ans		9 ans	
	Rick.	Autre	Rick.	Autre	Rick.	Autre	Rick.	Autre	Rick.	Autre	Rick.	Autre	Rick.	Autre	Rick.	Autre
+ 2°							6-6	4-4								
+ 8°	(2)-(0)-0	(8)-(8)-4			(3)-6-2	(2)-2-5	3-0-0	2-0-1	7-6	1-2	2-1	5-8	0-4-0-1 0-0-0	7-6-9-5 5-3-0	0-0 0-0	2-1 1-2
— 20°					4-7	6-3	0-	10				9	3-0-1 2	6-10-9 3	2-	8-

pour les ingestions forcées faites chez des vers blancs sains et destinées à éprouver la persistance de la virulence.

Les tableaux 15 et 16 indiquent que, dans ces conditions, la survie de ce micro-organisme est assurée pendant plusieurs années. Au bout de 7 ou 8 ans l'activité à l'égard des vers blancs reste sensiblement la même, compte tenu de la variabilité des résultats, due vraisemblablement à l'hétérogénéité des insectes infectés pris comme inoculum.

On note à nouveau le même phénomène de « compensation » entre les cas de rickettsiose déclarée avec présence des chaînettes et des cristaux dans les insectes et les cas de mortalité avec multiplication de bactéries diverses. Ceux-ci étant plus nombreux à mesure que la virulence diminue en fonction de la durée de conservation à la température considérée. Ces observations confirment les résultats des essais sur l'influence de la dose ou de la température exposés par ailleurs (HURPIN, 1971) et corroborent le rôle important des processus d'enchaînement et de toxémie dans l'action de *R. melolonthae* à l'égard des larves du Hanneton commun.

Ces données sur les facultés de résistance de *R. melolonthae* viennent à l'appui des faits exposés précédemment (cf. p 160) concernant le comportement à l'égard des antiseptiques. Elles témoignent de possibilités de survie plus importantes que pour la plupart des germes de ce groupe et analogues à celles de certaines spores bactériennes, en particulier les spores de *B. popilliae* DUTKY, 1963) ; (HURPIN, 1967.

En effet, en suspension aqueuse, à 4°C par exemple, *R. prowazeki* ne survit guère plus d'une semaine et *R. burneti* quelques mois. A — 20° la conservation de *R. prowazeki* atteint 8 mois, la résistance est meilleure dans un milieu desséché tels que les excréments de poux : la virulence de *C. burneti* peut alors atteindre 2 ans à 20°C., phénomène que l'on retrouve chez *R. melolonthae* dont le pouvoir pathogène se maintient plus longtemps dans les cadavres que dans une suspension d'hémolymph.

3. — Conservation dans le sol

Les résultats précédents donnent des indications sur les facultés de conservation de *R. melolonthae* dans quelques conditions de milieu considérées isolément. Dans la nature les rickettsies sont libérées dans le sol par la décomposition des cadavres et tout un complexe de facteurs mal définis intervient. Nous nous sommes donc efforcés d'examiner leur survie dans un substrat contaminé par mélange d'un broyat de larves malades. L'infectivité de ce substrat a été étudiée par des prélèvements périodiques de la quantité nécessaire pour l'élevage individuel de lots de 10 ou 20 vers blancs sains dont la morbidité et la mortalité ont servi de critères d'appréciation.

Une première expérience a porté sur trois substrats : la tourbe et deux types de terre : une terre sablonneuse (87 p. 100 de sable et 13 p. 100 d'argile et limon), de pH = 7,10 avec 3,5 p. 100 de matières organiques, et une terre riche en limon (10 p. 100 de sable et 90 p. 100 d'argile et limon) de pH = 7,15 avec 2,9 p. 100 de matières organiques. A 32 litres de chacun de ces sols a été ajouté en janvier 1962 le broyat de 350 vers blancs morts de rickettsiose. La moitié de ce mélange a été mise en seau de polyéthylène fermé sous abri extérieur, l'autre moitié a été répartie dans des pots à fleurs enterrés en plein air. Des prélèvements ont été faits après 3 mois, 6 mois, 1 an, 2 ans et 4 ans, avec mise en élevage dans ces trois types de substrats

conservés selon deux modalités (soit 6 variantes) de 20 larves en fin du 2^e stade ou au début du 3^e stade, à 20°C. Le tableau 17 récapitule les cas de rickettsiose enregistrés. Il met en évidence un maintien de l'activité pathogène de *R. melolonthae* pendant 18 mois dans tous les cas ; sans différences nettes entre les substrats et les modes de conservation.

TABLEAU 17

Cas de rickettsiose dans des lots de 20 vers blancs élevés dans des substrats contaminés antérieurement

Substrat	Conservation	Délais entre la contamination du milieu et la mise en élevage					
		3 mois	6 mois	12 mois	18 mois	2 ans	4 ans
Tourbe	Sous abri	9	6	0	2	0	0
	A l'extérieur	8	5	0	1		
Limon	Sous abri	8	5	0	0	0	0
	A l'extérieur	3	4	1	5		
Terre sableuse	Sous abri	6	8	1	1	0	0
	A l'extérieur	9	10	0	0		

Une deuxième expérience a eu pour but d'examiner l'influence de la température sur la conservation de ce germe dans deux substrats : la tourbe et une terre de pH 6,5 constituée de 15,5 p. 100 d'argile, 75 p. 100 de limon et 9,5 p. 100 de sable, avec 3 p. 100 de matières organiques. Pour chacun, 16 larves malades ont été incorporées après broyage dans 16 litres de milieu réparti dans 200 boîtes en polystyrène fermées par un couvercle et placées à 4 températures : 5°, 13°, 20° et 25°C. Après 1 mois, 2 mois, 4 mois, 8 mois et 1 an, 10 larves du 2^e stade ont été utilisées pour éprouver le rôle pathogène de chaque substrat à chaque température. Le tableau 17 montre une conservation d'autant meilleure que la température est plus basse. Elle dépasse 1 an à 13° dans la terre considérée. Par contre, la tourbe a donné des résultats négatifs dans la quasi-totalité des cas, contrairement aux faits notés dans l'expérience précédente, pour une raison non déterminée. En effet, les larves incorporées dans les deux milieux pour leur contamination avaient la même origine et la tourbe était analogue à celle employée précédemment. Toutefois malgré la fermeture des boîtes, ce substrat a été l'objet d'un dessèchement plus important que celui subi par la terre dans cet essai et plus accusé que celui noté dans la tourbe gardée en seau sous abri ou en pot à fleurs enterré. Il est possible que ce dessèchement soit à l'origine de la différence de persistance de la rickettsie adsorbée sur les particules de tourbe, ce qui témoignerait de la sensibilité de *R. melolonthae* à la dessiccation.

En conclusion, ces différents essais, qui sont poursuivis et précisés par des expériences plus complètes, notamment pour l'étude de la conservation dans le sol et pour l'examen de la résistance à la dessiccation suivant la température, montrent d'après les résultats acquis, que :

— la virulence de *R. melolonthae* se maintient plus longtemps à basse température ;

— sa persistance est sensiblement accrue lorsque les rickettsies se trouvent à l'intérieur des cadavres ou en milieu liquide (hémolymph ou suspension aqueuse purifiée). On peut penser que dans ces cas certains corps, en particulier de nature protéique, assurent une protection des éléments rickettsiens (tissus du cadavre,

TABLEAU 18

*Rickettsiose selon la durée et la température de conservation
du substrat d'élevage de lots de 10 L₃*

1. Dans la tourbe

Durée (mois)	25°	20°	13°	5°
1	1	0	0	0
2	0	0	0	0
4	0	0	0	0
8	0	0	0	0
12	0	0	0	0

2. Dans la terre

Durée (mois)	25°	20°	13°	5°
1	6	5	6	4
2	5	6	3	6
4	0	2	4	5
8	0	0	4	2
12	0	0	2	0

hémocytes de l'hémolymph, particules autres que les rickettsies, non éliminées lors de la purification et lysats des germes morts dans les suspensions);

— d'une façon générale, *R. melolonthae* fait preuve de facultés de conservation plus grandes que les autres rickettsies. Elles sont au moins aussi importantes que celles de *R. burneti*, qui est le germe de ce type réputé le plus résistant dans le domaine médical et vétérinaire.

La principale différence réside dans le comportement dans le sang desséché : alors que *C. burneti* survit à la température ordinaire au moins 6 mois, dans ces conditions, *R. melolonthae* ne semble résister que quelques mois.

De même *C. burneti* garde sa virulence pendant plus de 18 mois, au laboratoire, dans des excréments desséchés de tiques, alors que *R. melolonthae* supporte mal la dessiccation.

Par contre, en milieu humide la rickettsie de *Melolonthae* se conserve beaucoup plus longtemps que l'agent de la fièvre Q : au moins 4 ans à + 2°, + 4°C au lieu de quelques mois.

La résistance d'autres germes entomopathogènes dans des conditions analogues n'a fait jusqu'à présent l'objet que de recherches assez limitées que nous avons eu l'occasion de résumer récemment (HURPIN, 1967).

Pour les virus à corps d'inclusion, par exemple, la longévité des granules dans les cadavres dépasse 2 ans à -10°C d'après HUGER (1963), celle des suspensions de virus cytoplasmique de la Processionnaire du Pin est supérieure à 3 ans à $+4^{\circ}$ (ATGER et CHASTANG, 1961), tandis que la polyédrie nucléaire de *Bombyx mori* est encore pathogène après 20 ans en ampoule scellée à $+4^{\circ}\text{C}$ (STEINHAUS, 1960). Les corps d'inclusions assurent une bonne protection contre la dessiccation puisque des granules et des polyèdres ont été conservés au moins 5 ans au laboratoire sous forme de comprimés (VAGO, MARTOURET, HEITOR, 1961), tandis que JAKUES (1967) a constaté la persistance de la polyédrie nucléaire de *Trichoplusia ni* dans le sol après 5 ans.

— Dans le sol *R. melolonthae* a une résistance assez limitée. Elle se maintient pendant environ 18 mois dans des conditions analogues à celles de la nature, et la température joue un rôle important dans sa longévité ; de sorte que le climat, notamment la chaleur estivale et l'insolation, intervient certainement, de même que la nature du sol.

III. — CONCLUSION

Ces premières données permettent d'interpréter les observations dans la nature et d'estimer les chances d'installation d'un foyer épizootique.

On sait en effet, que la rickettsiose est une maladie très localisée, que nous n'avons eu l'occasion d'isoler parmi les milliers de larves de *M. melolontha* récoltés dans diverses régions de France qu'à une seule reprise : en juillet 1968 dans une prairie de l'Hôpital du Gros-Bois (Doubs) où 12 *L.* se révélèrent atteintes de rickettsiose sur 4 000 récoltées. A Lorsch en Allemagne et à Fontainebleau en France elle se trouve dans des sols forestiers humides et frais peuplés par *M. hippocastani*. En outre, à Lorsch, NIKLAS (1960, 1963) mentionne que les deux espèces de *Melolontha* coexistent dans les mêmes zones, sans compter divers autres *Scarabaeidae*, dont certains : *Amphimallon solstitialis* L., *Phyllopertha horticola* L., et *Serica brunnea* L., se sont montrés atteints également par la maladie dans la nature. Or, *M. melolontha* a un cycle évolutif de 3 ans et *M. hippocastani* un cycle de 4 ans, de sorte que chaque année il existe à Lorsch des larves actives appartenant à l'une ou à l'autre de ces deux espèces principales, sans oublier plus occasionnellement les larves des espèces citées précédemment.

Il en résulte qu'un délai de conservation de un an des germes pathogènes, en particulier de la rickettsie, suffit pour le maintien d'une enzootie. Or, nos essais font ressortir une persistance de la virulence d'environ 18 mois pour *R. melolonthae* dans un substrat, de même que certaines observations dans la nature (NIKLAS et BRAMMANIS, 1969) .

Par contre, dans la plupart des aires d'habitat de *M. melolontha* les larves appartiennent à un régime prédominant, ce qui est la règle lorsque les populations sont importantes.

Dans ce cas, il y a une période d'au moins 15 à 16 mois au cours de laquelle

aucune activité larvaire ne se manifeste : pendant les phases de nymphose, de vie imaginale hypogée puis épigée, de ponte, et de développement embryonnaire allant de juin-juillet de la 3^e année d'un cycle à août-septembre du cycle suivant. En outre, l'activité locomotrice et alimentaire des larves du premier stade et par suite les chances de contamination et d'infection sont assez limitées, de sorte que la multiplication des rickettsies se produit surtout pendant la 2^e année du cycle. L'intervalle entre 2 périodes d'activité du germe devient alors de 2 ans et excède vraisemblablement le délai moyen de conservation de la virulence. Cependant NIKLAS et BRAMMANIS (1969) ont indiqué récemment que *R. melolonthae* pouvait garder son pouvoir pathogène à l'égard de *M. melolontha* plus de 3 ans : 16 mois dans un sol artificiellement infecté dans la nature puis conservé pendant 22 mois au laboratoire.

En dehors de *M. hippocastani* à Lorsch ou à Fontainebleau, la permanence du germe dans un foyer peut être assurée par d'autres espèces de Scarabéides sensibles telles que *Amphimallon* et *Phyllopertha*. C'est ce qui intervient vraisemblablement dans la localité du Doubs où des larves de *M. melolontha* ont été récoltées atteintes d'une rickettsiose typique, dans une zone où vivent également ces deux autres vers blancs. A noter que chez les larves de *M. melolontha* de cette origine se sont manifestées la plupart des maladies répertoriées pour l'espèce : mycose à *Beauveria*, maladie laiteuse à *B. popilliae*, rickettsiose, léthargie, protozoonose à *Mono-cystis*. Ce qui est l'indice du caractère favorable du biotope pour le maintien enzootique des divers types de germes pathogènes pour le Hanneton commun et non pas seulement pour *R. melolonthae*. Nous nous proposons d'examiner sur le terrain les raisons de cet état de fait.

Un autre problème à étudier est le déterminisme de la destruction des rickettsies dans le sol alors que les facultés de résistance aux facteurs d'agression sont particulièrement importantes. Il est vraisemblable que les éléments de la microfaune du sol (microarthropodes, protozoaires, par exemple) sont en grande partie responsables de la disparition relativement rapide de ces microorganismes en dépit de leurs facultés exceptionnelles de résistance.

Outre ces conséquences épizootologiques, l'expérimentation sur la conservation de la virulence de la rickettsie des *Melolontha* nous a fourni l'occasion de mettre à nouveau en évidence les processus d'enchaînement de maladies qui se produisent lorsque la virulence de l'inoculum est diminuée. Dans ce cas, la morbidité et la mortalité sont dues à l'effet des rickettsies, mais leur multiplication n'est pas suffisante pour provoquer l'infection généralisée du tissu adipeux, par exemple. Ce sont des bactéries facultativement pathogènes qui se trouvent favorisées et déterminent la mort.

Reçu pour publication en mars 1971.

SUMMARY

RESISTANCE ABILITY AND VIRULENCE CONSERVATION OF RICKETTSIELLA MELOLONTHAE

The resistance of the *Rickettsia*, agent of the « blue disease » in *Melolontha* larvae, towards several physical and chemical agents has been studied by submitting suspensions, prepared either by dilution in sterile water from the blood of diseased white grubs or from crushed fat body, to the effect of certain factors for various times : temperature, UV radiations, antiseptics,

sulphonamides, antibiotics. Then, these suspensions were injected in the body cavity or in the oesophagus of healthy larvae in the 3rd instar in order to check their pathogenicity. In every case multiple replications have been done ; all these tests emphasize the exceptional resistance ability of *Rickettsia melolonthae* towards the used agents.

The thermal resistance is very high : it lasts more than 15 minutes at 90°C and even reach several minutes at 100°C. Also, this *Rickettsia* showed able to survive after an UV irradiation for 1 to 2 hours in a purified suspension. Such antiseptics as hydrogen peroxyde, formaldehyd, acetic acid, alkali, and diluted alcohol are no more effective after 24 hours of contact, and more than 1 hour is required for carbolic acid, potassium permanganate or sublimate to alter the germ virulence. This virulence is independent of the suspension pH in a large range, going from pH = 4 to pH = 10.

Like *Coxiella burneti*, *R. melolonthae* is susceptible neither to the effect of paraaminobenzoic acid nor the sulphanomides inhibiting the intracellular development of most of the *Rickettsiae* pathogenous to man. The behavior towards antibiotics has been investigated by various methods : simultaneous injection of the mixture *Rickettsiae* suspension + antibiotics, following a 30 minutes to 24 hours contact at 20°C and in darkness, injection of the product in the white grubs hemocoel 15 to 20 minutes before injection of the *Rickettsiae*, or several days after the larvae infection. In spite of the very high dosis used *R. melolonthae* revealed a resistance towards all antibiotic, either penicillins or streptomycins, without effect upon the microorganisms in this group, or tetracyclins and chloramphenicol constituting the choice drugs in the cure of man rickettsiosis. It is also not susceptible to fungicide antibiotics or fungistatics and to the products with a range as wide and varied as the neomycins, the viomycin or the rifampicin.

The way of maintaining the virulence has been investigated in connection with the kind of conservation medium : smears of dried blood, suspensions, crushed diseased insects, dead insects and according to the temperature on the one hand ; and on the other hand in various types of soils outside, under cover and in the laboratory at four temperatures : 5°C, 13°C, 20°C and 25°C. These experiments show that *R. melolonthae* survives longer in a liquid medium than in dried smears and the better when the temperature is lower : after 6 months at + 20°C the smears are no more infectious while they keep their pathogenic power after 6 years at — 20°C. In the dead insects at — 8°C the virulence is maintained after 10 years, as well as for the lyophilizate. This emphasize the higher conservation ability than in other *Rickettsiae* and even more important than those of *C. burneti* the most resistant of this group.

On the other hand, in the soil *R. melolonthae* is destroyed rather fast : after about 18 months in conditions close to the natural ones, for under terminated reasons, but among which the part played by the soil fauna (microarthropods, Protozoa, for example) ought not to be neglected.

This phenomena could explain the localization in rare biotops of the foci where the Rickettsiosis is maintained in an enzootic form, because of the three years cycle of *M. melolontha*.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- AIZAWA K., 1955. Inactivation of the silkworm jaundice virus by the ultraviolet irradiation. *J. sericult. Sci. Japan*, **24**, 398-399.
- ALLEN E. G., BOVARNICK M. R., SNYDER J. C., 1954. The effect of irradiation with ultraviolet light on various properties of typhus rickettsiae. *J. Bact.*, **67**, 718-723.
- ANDREWES C. H., HORSTMANN D. M., 1949. The susceptibility of viruses to ethylether. *J. gen. Microbiol.*, **3**, 290-298.
- ATGER P., CHASTANG S., 1961. Conservation du pouvoir infectieux des polyédries cytoplasmiques de *Thaumetopoea pityocampa* SCHIFF. *Phytatrie-Phytopharmacie*, **10**, 201-204.
- BABUDIERI B., 1959. Q Fever a zoonosis in : *Advances in veterinary science*. (C. A. Brandy et E. L. Jungher ed.), Academic Press, New York, 81-182.
- CAMERON J. W., MAC B., 1967. Suitability of pathogens for biological control. *Insect pathology and microbial control*, Procede. intern. Coll. Wageningen, 1966, 182-196.
- DAVID W. A. L., 1969. The effect of ultraviolet radiation of known wavelenghts on a granulosus virus of *Pieris brassicae*. *J. Invertebrate Pathol.*, **14**, 336-342.
- DAVID W. A. L., GARDINER B. O. C., 1967. The effect of heat, cold and prolonged storage on a granulosus virus of *Pieris brassicae*. *J. Invertebrate Pathol.*, **9**, 555-562.
- DUTKY S. R., 1959. Insect microbiology. *Adv. appl. Microbiol.*, **1**, 175-200.
- DUTKY S. R., 1963. The milky diseases in : *Insect Pathology. An advanced treatise*. (E. A. Steinhaus, ed.), Academic Press, New York, **2**, 75-116.

- FRIESEN J. D., SANKOFF D., SIMINOVITCH, 1963. Radiobiological studies of vaccinia virus. *Virology* **21**, 441-424.
- GIROUD P., DUMAS N., 1958. Organisation des inframicrobes, Rickettsiales, Péripleumonales. In *Exposés actuels de biologie cellulaire*, Masson, Paris, 91-141.
- GIROUD P., CAPPONI M., 1963. Recherche du pouvoir protecteur sur souris d'un dérivé du *Bacillus colistinus* et de la pénemepicycline sur l'infection locale pulmonaire à *Rickettsia prowazeki* et l'infection générale à *R. tsutsugamushi*. *Bull. Soc. Pathol. exot.*, **56**, 55-59.
- GRIEFF D., PINKERTON H., 1948. Effects of enzyme inhibitors and activators on multiplication of typhus rickettsiae : correlation of effects of PABA and KCN with oxygen consumption of embryonated eggs. *J. exp. Med.*, **87**, 3-.
- GRIEFF D., PINKERTON H., MORAGUES V., 1944. Effect of enzyme inhibitors and activators on the multiplication of typhus rickettsiae. *J. exptl. Med.*, **80**, 561-574.
- HAGEMANN G., 1963. Antibiotiques in : J. von WIESNER : *Die Rohstoffe des Pflanzenreiches*, J. Cramer, Weinheim, 1-272.
- HANSEN N. H., RIEMANN H., 1963. Factors affecting the heat resistance of non sporing organisms. *J. appl. Bacteriol.*, **26**, 314-333.
- HELLER E., ARGAMAN M., LEVY H., GOLDBLUM N., 1969. Selective inhibition of vaccinia virus by the antibiotic rifampicin. *Nature*, **224**, 273-274.
- HUGER A., 1963. Granulosis of insects. In : *Insect Pathology. An advanced treatise*. (E. A. Steinhaus, ed.), Academic Press, New York, **2**, 531-575.
- HURPIN B., 1964. Élevage des vers blancs ou larves de *Melolontha melolontha* L. (Coleopt. Scarabaeidae). *Rev. Path. vég. Ent. agric.*, **43**, 153-177.
- HURPIN B., 1965. Sur la résistance de *Rickettsiella melolonthae* KRIEG aux antibiotiques. *Entomophaga*, **10**, 311-315.
- HURPIN B., 1967. Influence du milieu. In : *Insect Pathology and microbial control*. Proceed. intern. Coll. Wageningen, 1966, Noth-Holland Co, Amsterdam, 135-161.
- HURPIN B., 1967. Recherches épizootologiques sur la maladie laiteuse à *Bacillus popilliae* « *Melolontha* ». *Ann. Épiphyties*, **18**, 127-173.
- HURPIN B., 1971. Contribution à l'étude des facteurs de pathogénie de *Rickettsiella melolonthae* à l'égard des larves du Hanneton commun (*Melolontha melolontha* L.). *Entomophaga*, **16**,
- HURPIN B., VAGO C., 1961. Remarques sur la maladie transparente des larves de *Melolontha melolontha* L. *Entomophaga*, **6**, 191-196.
- JAKUES R. P., 1967. The persistence of a nuclear polyhedrosis virus in the habitat of the host insect, *Trichoplusia ni*. II. Polyhedra in soil. *Canad. Ent.*, **99**, 820-829.
- JAKUES R. P., 1968. The inactivation of the nuclear polyhedrosis virus of *Trichoplusia ni* by gamma and ultraviolet radiation. *Canad. J. Microbiol.*, **14**, 1161-63.
- KARP A., SNYDER J. C., 1952. *In vitro* effect of aureomycin, terramycin and chloramphenicol on typhus rickettsiae. *Proc. Soc. exptl. Biol. Med.*, **79**, 216-219.
- KRIEG A., HUGER A., 1960. A virus disease of coleopterous insects. *J. Insect Pathol.*, **2**, 274-288.
- LATARJET R., MORENNE P., BERGER R., 1953. Un appareil simple pour le dosage des rayonnements ultraviolets émis par les lampes germicides. *Ann. Institut Pasteur*, Paris, **85**, 174-184.
- MARCOVICH H., 1957. Étude radiobiologique du système lysogène d'*Escherichia coli* K 12. *Ann. Institut Pasteur*, Paris,
- MARTOJA R., 1966. Sur quelques aspects de la biologie des Orthoptères en relation avec la présence de concentrations microbiennes (Bactéries intestinales, Rickettsies). *Ann. Soc. ent. France* (N. S.), **2**, 753-940.
- MARUYAMA Y., HAYASHI K., 1963. Effect of UV irradiation on nucleic acid synthesis in germinating *Aspergillus niger* conidia. *J. gen. appl. Microbiol. Jap.*, **9**, 425-431.
- NICOLAU St. S., CONSTANTINESCU N., 1965. Rickettsii si rickettsioze. *Ed. Acad. Rep. Soc. Romana*, 1-801.
- NIKLAS O. F., 1960. Standorteinflüsse und natürliche Feinde als Begrenzungsfaktoren von *Melolontha*-larvenpopulationen eines Waldgebietes (Forstamst Lorsch, Hessen) (Coleoptera, Scarabaeidae). *Mitt. Biol. Bund. Land-u-Forstwirts.*, Berlin, **101**, 1-60.
- NIKLAS O. F., 1963. Infektionen durch *Rickettsiella melolonthae* (KRIEG) Philip bei Larven von *Amphimallon solstitialis* (LINNAEUS), *Anomala dubia aenea* (DE GEER), *A. (Phyllopertha) horticola* (LINNAEUS), *Maladera (Serica) brunnea* (LINNAEUS) und *Onthophagus* sp. *Beit. Ent.*, **13**, 395-401.
- NIKLAS O. F., BRAMMANIS L., 1969. Lebensfähigkeit von *Rickettsiella melolonthae* (KRIEG) Philip nach Lagerung mit Erde im Freiland und im Laboratorium. *Nachrichtenbl. Deutsch. Pflanzenschutzd.*, **21**, 11-12.
- ORMSBEE R. A., PARKER H., PICKENS E. G., 1955. The comparative effectiveness of aureomycin, terramycin, chloramphenicol, erythromycin and thiomycin in suppressing experimental infections in chick embryos. *J. Infect. Diseases*, **96**, 162-167.
- ROBBINS M. L., BOURKE A. R., SMITH P. K., 1950. The effect of certain chemicals on *Rickettsia typhi* infections in chick embryos. *J. Immunol.*, **64**, 431-446.
- ROBERT P. H., 1969. Essais de laboratoire sur la conservation de la virulence de *Vagovirus melolonthae*. *Entomophaga*, **14**, 159-175.

- SAVITSKAYA E. P., 1963. A method for determination of the sensitivity of *Rickettsia burneti* *in vitro*. *Antibiotiki*, **8**, 512-516 (en russe).
- SCHMIDT C. F., 1957. Thermal resistance of microorganisms in : *Antiseptics, Disinfectants, Fungicides and Sterilization*. G. F. Reddish, ed., 1-975.
- SNYDER J. C., BOVARNICK M. R., MILLER J. C., CHANG R. S. M., 1954. Observations on the hemolytic properties of typhus rickettsiae. *J. Bact.*, **67**, 724-730.
- STEINHAUS E. A., 1960. The duration of viability and infectivity of certain insect pathogens. *J. Insect Pathol.*, **2**, 225-229.
- SUSSMAN A. S., HALVORSON H. O., 1966. Longevity and survivability of spores, in : *Spores — their dormancy and germination*. Harper and Row, New York, London, 1-354.
- SYKES G., 1958. *Disinfection and Sterilization*. E. and N. Spon Ltd., London, 1-396.
- VAGO C., BUSNEL M. C., 1952. Désinfection par rayonnement ultraviolet 2537 Å du matériel et des cages d'élevage d'un laboratoire d'entomologiste. *Phytiatrie-Phytopharmacie*, **1**, 37-40.
- VAGO C., MARTOURET D., HEITOR F., 1961. Conservation de virus et de bactéries entomopathogènes sous forme de comprimés. *Entomophaga*, **6**, 185-189.
- WATANABE S., 1951. Studies on the grasserie virus of the silkworm *Bombyx mori*, physical and chemical effects upon the virus. *Japan J. exp. Med.*, **21**, 299-313.
- WEISS E., DRESSLER H. R., SUITOR E. C., 1957. Selection of a mutant strain of *Rickettsia prowazeki*, resistant to *p*-aminobenzoic acid. *J. Bact.*, **73**, 421-430.
- WEYER F., 1961. Zur Frage der Widerstandsfähigkeit von Rickettsien im Läusekot gegen physikalische Einflüsse, insbesondere gegen Wärme. *Z. Tropenmed. Parasitol. Dtsch.*, **12**, 78-92.
- ZDRODOVSKII P. F., GOLINEVICH H. M., 1960. *The rickettsial diseases*. Pergamon Press, 1-629.
-

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DE LA DYNAMIQUE DES POPULATIONS D'HOMOPTÈRES INFÉODÉS AUX AGRUMES

I. — ESTIMATION DE LA SURFACE D'UNE FEUILLE
EN FONCTION DE SES DEUX PLUS GRANDES DIMENSIONS

J.-C. ONILLON, J. ONILLON et R. TOMASSONE *

avec la collaboration technique de M^{me} MOLINARI et M^{me} DESJEUNES *

Station de Zoologie et de Lutte biologique,
Centre de Recherches I. N. R. A.,
06 - Antibes

Laboratoire de Biométrie,
Centre national de Recherches zootechniques, I. N. R. A.,
78 - Jouy-en-Josas

* Station de Biométrie,
Centre national de Recherches forestières, I. N. R. A.,
54 - Champenoux

RÉSUMÉ

Pour mieux préciser la dynamique des populations d'un Aleurode inféodé aux *Citrus*, *Aleurothrixus floccosus* MASK., les auteurs examinent les travaux portant sur l'estimation de la surface foliaire et donnent trois formules permettant la détermination précise de la surface d'une feuille de *Citrus aurantium* et *C. deliciosa*, à partir des deux plus grandes dimensions du limbe. Un abaque permet la détermination immédiate de la surface d'une feuille de *C. aurantium*.

INTRODUCTION

L'étude des possibilités d'utilisation des entomophages dans la lutte contre un nouvel Aleurode inféodé aux *Citrus*, *Aleurothrixus floccosus* MASKELL, impose une connaissance très précise de la dynamique des populations du ravageur. Les différents stades embryonnaires et larvaires vivant fixés sur la face inférieure des feuilles

à de très fortes densités numériques, il devenait nécessaire de considérer l'évolution qualitative et quantitative des différents *stades par unité de surface foliaire*, comme l'élément primordial de toute analyse de population. D'autre part, l'étude des différents facteurs de mortalité naturelle affectant les populations en place du ravageur semble montrer que la surpopulation est un facteur de régulation de cet Aleurode, sinon le plus important. Il devenait indispensable de trouver une relation entre les deux dimensions du limbe et la surface foliaire, afin de connaître, avec le *maximum de précision*, la superficie d'une feuille sans avoir à la détacher de l'arbre.

HISTORIQUE

Les études sur l'augmentation de la surface foliaire en fonction du temps chez les plantes herbacées sont assez nombreuses. Chez les espèces ligneuses, GROOM (1910) sur *Picea excelsa* LINK. et *Pinus sylvestris* L., puis RAMANN (1911) et KNUCHEL (1914) sur *Fagus sylvatica* L., établissent le bilan foliaire de l'arbre. De nombreux travaux sur la surface foliaire des arbres fruitiers apparaissent ensuite avec les travaux de PICKETT (1934), VYVYAN et EVANS (1932), VYVYAN (1935), WILCOX (1937). GREGORY (1921) effectue une analyse complète, avec discussion et limites de la méthode utilisée, sur l'augmentation de la surface d'une feuille de *Cucumis sativus* L. en fonction du temps et de la localisation sur la tige. SAMPSON et SAMISCH (1935) signalent l'existence d'une relation entre la surface et le poids sec des feuilles chez *Quercus*. Récemment HOLLAND (1968) établit une relation entre la circonférence d'une branche et la surface des feuilles portées par cette branche.

Plus rares sont les travaux traitant de la surface d'une feuille. FREEMAN et BOLAS (1956) assimilent la surface d'une feuille de Rosacée à celle d'une ellipse. FREEMAN (1958) compare l'efficacité de deux méthodes de calcul de surface foliaire. Les travaux de RUBIN et DANILEVSKAYA (1957) permettent l'ébauche d'une relation entre les deux plus grandes dimensions du limbe et la surface foliaire, et définissent un coefficient variétal caractéristique de certaines Rosacées. Enfin, TURRELL (1961) établit sur certaines espèces de *Citrus* (*Citrus grandis*, *C. limona*, *C. sinensis*) une relation entre une des dimensions de la feuille, la longueur du limbe et la surface foliaire.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

1. — Caractéristiques du matériel végétal utilisé

Les feuilles utilisées pour ce travail et l'étude de la dynamique des populations d'*A. floccosus* proviennent de bigaradiers (*Citrus aurantium* L.) poussant dans un verger situé à Saint-Laurent-du-Var (Alpes-Maritimes) sous des pratiques culturales normales. Tous les arbres sont des bigaradiers bouquetiers, de la variété *Bigaradier de Grasse* dont les caractères phénologiques ont déjà été précisés par CHAPOT (1964 a et b). Ces orangers amers, cultivés pour la fleur ont 50 ans de plantation et leur vigueur est normale.

Les mêmes observations ont été également réalisées sur des Clémentiniers (*Citrus deliciosa* var. *Clementina* RICCOB) poussant à la Station de Zoologie et de Lutte biologique d'Antibes, ayant 13 ans de plantation et de même origine.

Les 3 000 feuilles de bigaradier utilisées pour l'estimation et la validation des formules ont été prises sur 8 arbres choisis par tirage au sort et cela *en dehors des trois poussées de sève annuelles* dont la succession chronologique est la suivante :

- la première, de loin la plus importante survient en avril-mai ;
- la seconde, beaucoup plus faible, en juillet-août ;
- et une troisième en octobre-novembre, qui du point de vue quantitatif est située entre les deux précédentes. Les 1 000 feuilles de Clémentiniers ont été cueillies sur deux arbres dans les mêmes conditions.

Les caractéristiques foliaires des feuilles de bigaradier et de clémentinier diffèrent essentiellement par la forme. La feuille de bigaradier est ovée à ovée-elliptique avec un pétiole articulé, pourvu d'ailes susceptibles de prendre une grande importance et pouvant constituer, suivant l'importance de la surface du limbe, une seconde feuille. Ce genre de feuille, que nous appellerons « bi-feuille » est schématisé sur la figure 3. La feuille de clémentinier est ovée-elliptique à ovée-lancéolée.

2. — Obtention du contour foliaire et calcul de la surface foliaire

L'obtention du contour foliaire permettant la mesure des surfaces a été réalisée de deux façons complémentaires :

a) Les feuilles de bigaradier ont été insérées entre une plaquette de verre et des feuilles de papier sensible « Diazo moyen 10 B » cartonnées. Le temps nécessaire à l'impression du papier par la lumière solaire (UV) est d'environ 10 secondes. Le papier impressionné est ensuite stocké dans une enceinte étanche où les vapeurs d'ammoniaque jouent le rôle de révélateur. Cette méthode est utilisée pour les feuilles indemnes d'*A. floccosus* et la persistance de la feuille sur l'arbre exclut l'emploi du photomètre, méthode préconisée par MAGGS (1957).

b) Les feuilles prélevées pour l'échantillonnage et présentant des degrés d'attaque divers du ravageur sont plaquées sur une feuille de papier et le contour est noté avec une pointe sèche.

Pour ces deux méthodes, la superficie foliaire est calculée par la moyenne de quatre mesures faites au planimètre par le même expérimentateur. Si l'écart entre les deux valeurs extrêmes trouvées représente plus de 6 p. 100 de la moyenne, une mesure supplémentaire est effectuée.

RÉSULTATS

Les travaux de TURRELL (1961 et 1969) remarquables par l'étude d'ensemble des relations existant entre la quasi-totalité des caractéristiques phénologiques des *Citrus* (nombre de feuilles, âge et hauteur de l'arbre, surface et volume de la couronne...) semblent moins précis en ce qui concerne la surface foliaire.

En effet, TURRELL ne fait intervenir, dans son calcul de surface, qu'un seul facteur, la longueur du limbe, elle-même subdivisée en 16 classes dont l'intervalle représente 1,5 cm (... 3,1 — 4,5 ; 4,6 — 6,0 ; ...). Or, dans le cas des feuilles de *C. aurantium* à longueur égale du limbe, 6 cm par exemple, la largeur peut varier entre 1,9 et 4,4 cm, ce qui correspond respectivement à 7,5 et 17,7 cm² de surface foliaire réelle.

Pour une quantité de 6 000 œufs d'*A. floccosus* portée par une telle feuille, ce qui ne représente pas un maximum, la densité numérique varierait entre 800 œufs par cm² pour une surface de 7,5 cm² à 340 œufs au cm² pour une surface de 17,7 cm² contre 480 œufs au cm² dans le cas de la formule n'utilisant que la longueur du limbe. On voit aisément l'importance du facteur largeur du limbe dans la recherche d'une estimation aussi rigoureuse que possible de la surface foliaire.

Aussi à l'équation de TURRELL :

$$A' = c \cdot l^n \quad (1)$$

où A' est la surface du limbe en cm², l la longueur du limbe en cm, c et n sont des constantes, dérivant de l'équation d'allométrie

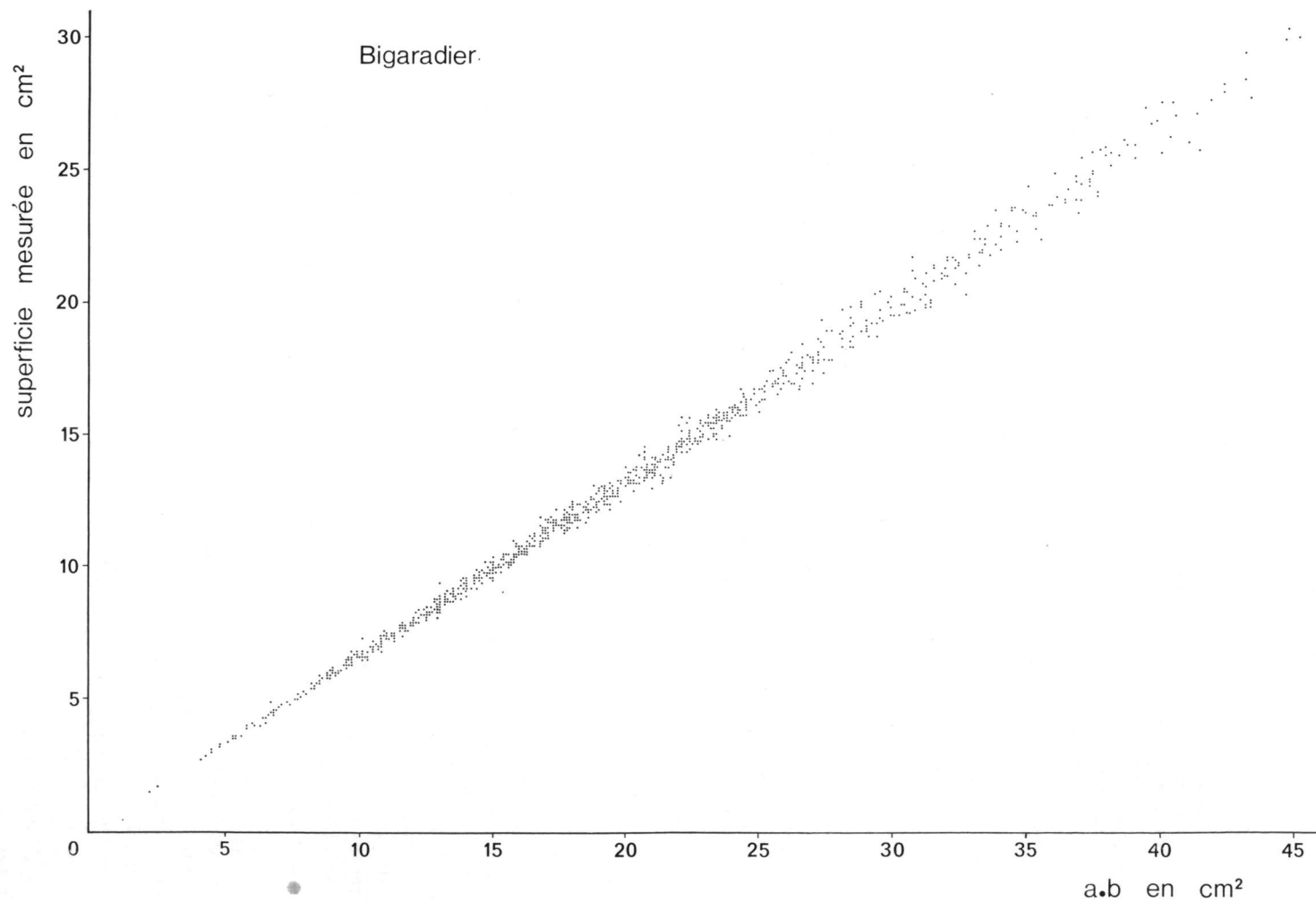


FIG. 1. — Relation entre la surface réelle d'une feuille de *Citrus aurantium* et le produit des deux plus grandes dimensions du limbe

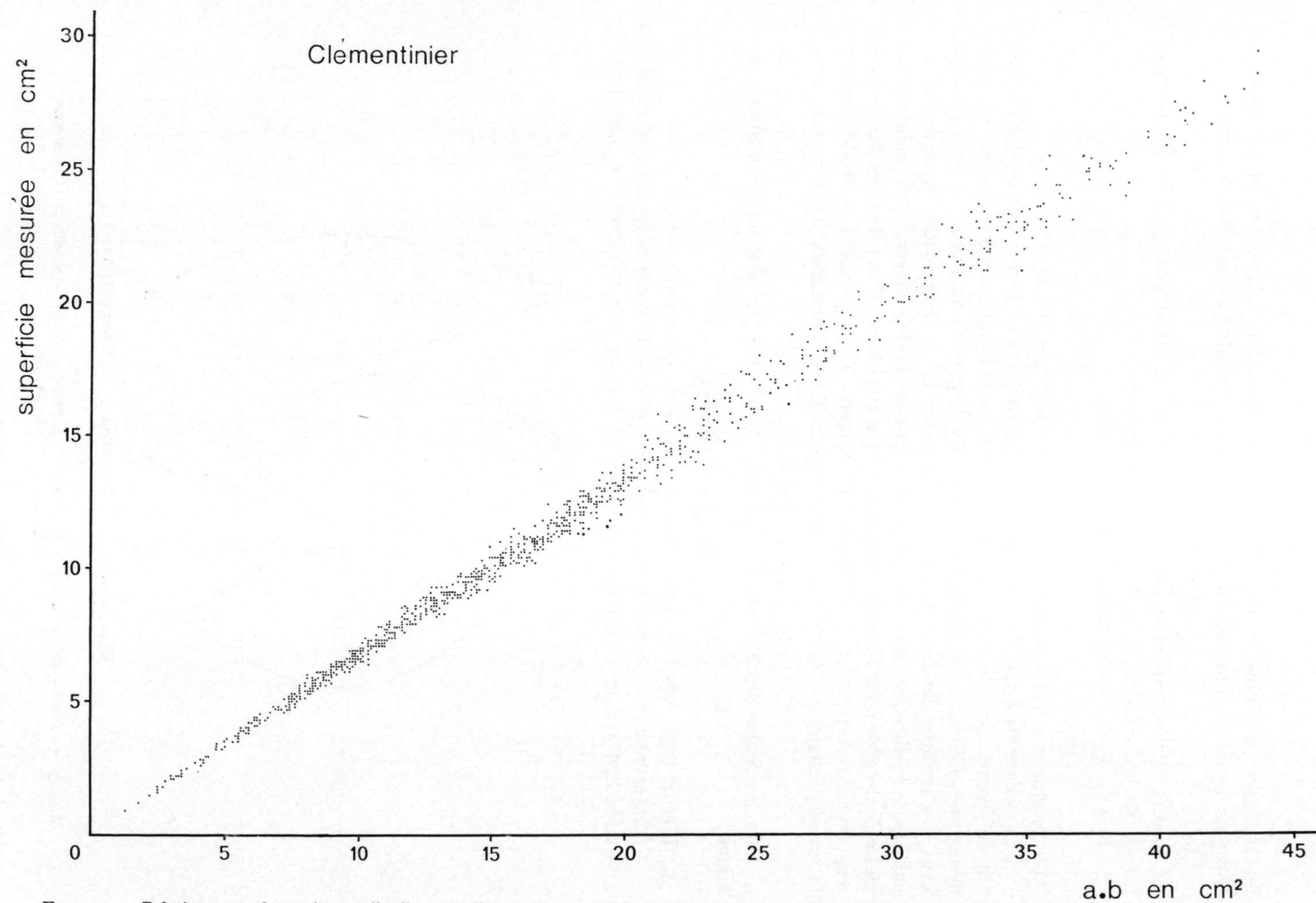


FIG. 2. — Relation entre la surface réelle d'une feuille de *Citrus deliciosa* et le produit des deux plus grandes dimensions du limbe

$$Y = bx^k \quad (2)$$

de HUXLEY et TEISSIER (1936) reliant la croissance relative de deux caractéristiques mesurées d'un organisme, avons-nous substitué l'équation suivante :

$$S = k \cdot a^\alpha \cdot b^\beta \quad (3)$$

où S est la surface foliaire en cm^2 , a et b respectivement les plus grandes longueur et largeur du limbe en cm , K , α et β sont des constantes.

Si $\alpha = \beta = 1$, la formule (3) devient alors :

$$S_R = k_1 \cdot a \cdot b \quad (4)$$

où le produit $a \cdot b$ représente une surface aisément mesurable.

La valeur de k_1 peut être estimée à l'aide des figures 1 et 2. Sur ces graphiques ont été portés : en abscisse le produit $a \cdot b$ et en ordonnée la surface réelle S_R , pour deux types différents de feuilles de *Citrus*. La dispersion du nuage de points provenant des mesures de 1 000 feuilles de bigaradier et de clémentinier montre que les valeurs de k_1 obtenues pour chaque feuille prise individuellement, sont incluses dans un angle de 3030 pour le bigaradier et de 50 pour le clémentinier dont les bissectrices respectives ont pour pente commune $k_1 = 0,66$ ⁽¹⁾. La première formule donnant la surface foliaire en fonction des deux plus grandes dimensions du limbe est alors :

$$S_R = 0,66 a \cdot b \quad (5)$$

La moyenne des valeurs de k portant sur 3 000 feuilles de bigaradier nous donne :

$$k_{m(b)} = 0,666\ 875$$

L'écart-type relatif à la moyenne est $S_{m(b)} = 0,000\ 309$.

L'intervalle de confiance, au seuil de 1 p. 100 de cette moyenne est donc de $\mu = 0,666\ 875 \pm 2,58 \times 0,000\ 309 = 0,666\ 875 \pm 0,000\ 797 = [0,666\ 078 ; 0,667\ 672]$

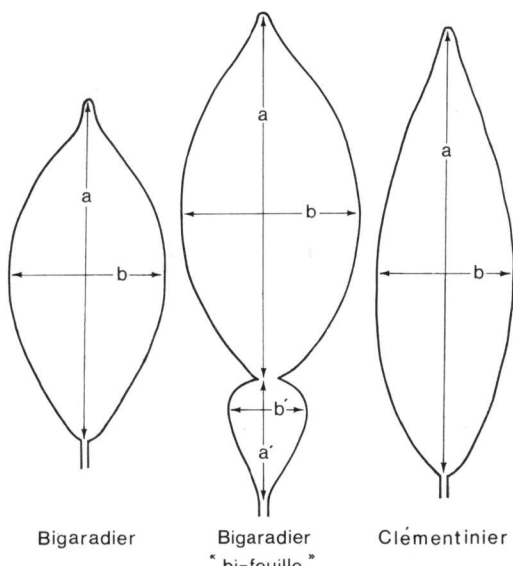


FIG. 3. — Forme des deux types de feuille de bigaradier et de la feuille de clémentinier
Dimensions du limbe foliaire

⁽¹⁾ Si la feuille était elliptique, k_1 vaudrait exactement $\pi/4 = 0,785\ 4$.

Pour les 1 000 feuilles de clémentinier, la moyenne des valeurs de k est la suivante :

$$k_{m(c)} = 0,665\ 33$$

L'écart-type relatif à la moyenne est $S_{m(c)} = 0,002\ 13$. L'intervalle de confiance au seuil de 1 p. 100 de cette moyenne est donc :

$$\mu = 0,665\ 53 \pm 2,58 \times 0,002\ 13 = 0,665\ 33 \pm 0,005\ 50 = [0,659\ 83 ; 0,670\ 83]$$

Distribution de k .

Dans la formule (5), pour les deux types de feuilles de bigaradier et de clémentinier, la constante k a été déterminée graphiquement.

Une analyse plus rigoureuse a été effectuée pour connaître la dispersion des valeurs de k autour de la valeur moyenne trouvée.

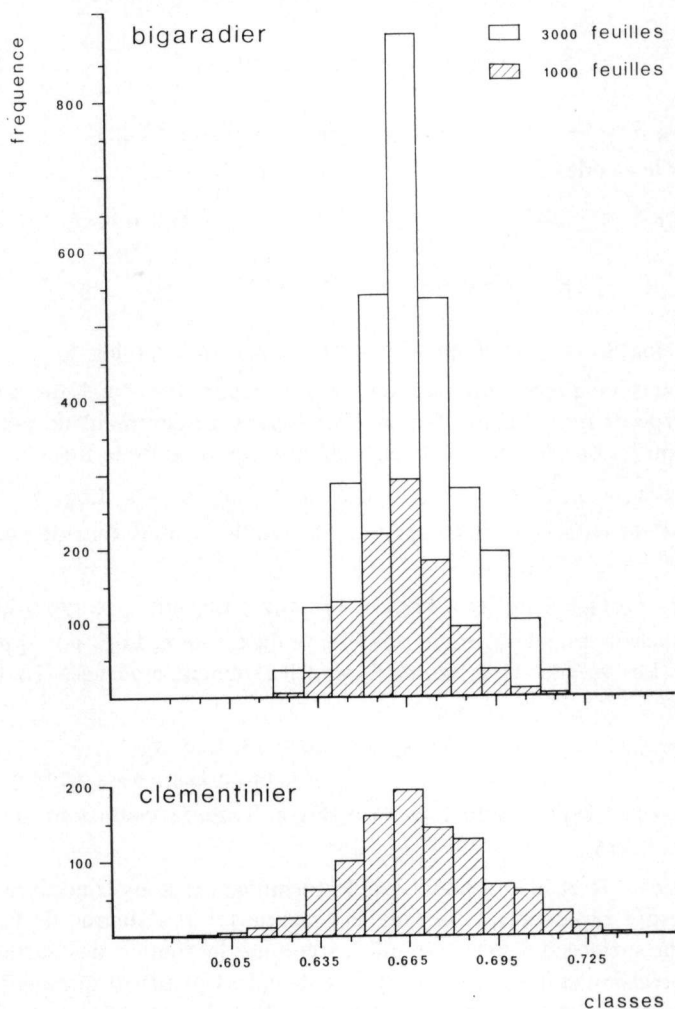


FIG. 4. — Distribution de k chez les 3 000 feuilles de bigaradier et les 1 000 feuilles de bigaradier et de clémentinier

Le test de normalité effectué sur l'histogramme des fréquences de k prouve que la distribution s'écarte d'une façon notable de la distribution normale. La distribution normale théorique se trouve au-dessous de l'histogramme observé pour la partie médiane et pour les classes supérieures à 0,70 et au-dessus pour les classes 0,675 et 0,685 ce qui se traduit par un aplatissement plus accentué que celui de la loi normale et un décalage vers la droite de la distribution (excentricité).

Pour connaître la valeur exacte des exposants α et β affectés aux deux plus grandes dimensions de la feuille, exposants que nous avons arbitrairement posés comme égaux à l'unité, les données relatives à S_R , a et b pour les 3 000 feuilles de bigaradier et les 1 000 feuilles de clémentinier ont été soumises à une analyse de régression logarithmique qui donne les résultats suivants :

— Pour les feuilles de *Citrus aurantium*

$$\text{Log}_e S = -0,3658 + 0,9713 \text{ Log}_e a + 1,0147 \text{ Log}_e b \quad (6)$$

Soit :

$$S = 0,69365 \cdot a^{0,9713} \cdot b^{1,0147} \quad (7)$$

ou

$$\log S = -0,15886 + 0,9713 \log a + 1,0147 \log b \quad (8)$$

— Dans le cas des feuilles de *Citrus deliciosa*

$$\text{Log}_e S = -0,3140 + 0,9606 \text{ Log}_e a + 0,9850 \text{ Log}_e b \quad (9)$$

Soit :

$$S = 0,73052 \cdot a^{0,9606} \cdot b^{0,9850} \quad (10)$$

ou

$$\log S = -0,13637 + 0,9606 \log a + 0,9850 \log b \quad (11)$$

Nous avons vu précédemment que chez le bigaradier, quelques rares feuilles, environ 5 p. 100 de notre échantillonnage au hasard, présentaient un pétiole articulé avec expansion du limbe. On a donc cherché une équation de la forme :

$$\text{Log}_e S = k_2 + k_3 \text{ Log}_e a + k_4 \text{ Log}_e a' + k_5 \text{ Log}_e b + k_6 \text{ Log}_e b' \quad (12)$$

L'analyse de régression faite sur ces « bi-feuilles » nous fournit l'équation suivante :

$$\text{Log}_e S = 1,2243 + 0,8362 \text{ Log}_e a + 0,1973 \text{ Log}_e a' + 0,2799 \text{ Log}_e b' \quad (13)$$

L'introduction dans la formule précédente du terme $k_5 \text{ Log}_e b$ n'apporte aucune amélioration. Les valeurs k_2 , k_3 , k_4 , k_5 , k_6 sont légèrement modifiées. La formule (13) devient alors :

$$\begin{aligned} \text{Log}_e S = 1,2641 + 0,7407 \text{ Log}_e a + 0,2076 \text{ Log}_e a' \\ + 0,1122 \text{ Log}_e b + 0,2750 \text{ Log}_e b' \end{aligned} \quad (14)$$

avec comme écart-type résiduel $\sigma_r = 0,189$ et comme coefficient de corrélation multiple $R = 0,815$.

La valeur de R et la complexité de la formule (13) nous conduisent à adopter, pour une mesure rapide sur le terrain, la formule (7) et l'abaque de la figure 5 en considérant la surface de ces « bi-feuilles » comme la somme des surfaces de deux feuilles. La précision suffisante et la rapidité de calcul justifient aisément ce choix.

Les exposants α et β affectés aux deux plus grandes dimensions du limbe foliaire semblant très voisins de l'unité dans les formules (7) et (10) d'une part, et le produit

ab représentant une valeur rapidement mesurable sur le terrain d'autre part, nous avons, dans le cas des feuilles entières de bigaradier et de clémentinier, essayé une équation de la forme :

$$S = k_7 + k_8 a \cdot b \quad (15)$$

Dans le cas des feuilles de bigaradier, cette formule donne :

$$S_b = 0,1025 + 0,6637 a \cdot b \quad (16)$$

et pour le clémentinier :

$$S_c = 0,139 + 0,6579 a \cdot b \quad (17)$$

DISCUSSION

Dans ses travaux, TURRELL (1961) avait mis en évidence une relation entre la longueur du limbe et la surface foliaire, lui permettant, par l'étude du bilan foliaire total, d'estimer la croissance de l'aire photosynthétique des *Citrus* en fonction du temps.

Dans notre étude, la mise en évidence d'une relation entre les deux plus grandes dimensions du limbe et la surface foliaire correspondante a été faite pour connaître rapidement, par le biais d'une estimation aussi rigoureuse que possible de la surface d'une feuille, d'une part la densité numérique des stades embryonnaire et larvaires d'*Aleurothrixus floccosus* et d'autre part la densité numérique initiale minimale à partir de laquelle la surpopulation agit en tant que facteur naturel de régulation des populations. Ce dernier point implique en fait la persistance de la feuille sur l'arbre, la densité numérique des divers stades du ravageur variant en fonction des poussées de sève du végétal et des conditions climatiques locales.

Il est évident que cette analyse est susceptible d'être utilisée pour tous les travaux portant sur la dynamique des populations d'Homoptères inféodés aux Agrumes, tout au moins pour les ravageurs dont plusieurs stades sont fixés ou peu mobiles (Cochenilles, Aleurodes et Psylles).

Ces résultats ne peuvent être applicables que sur des feuilles entières n'ayant subi aucune altération due aux facteurs biotiques (pucerons) ou abiotiques (grêle, vent...).

Nous avons vu que pour le cas des feuilles de *Citrus*, à longueur égale du limbe, la largeur varie dans de notables proportions amenant, pour l'utilisation de la formule (1) une erreur dans l'estimation de la surface d'une feuille de 35 p. 100.

Pour chacune des trois formules, que nous présentons pour l'estimation de la surface foliaire en fonction des deux plus grandes dimensions du limbe, la précision est fournie par la valeur de l'écart-type résiduel. La formule (5), déterminée graphiquement, représente une approximation satisfaisante de la surface d'une feuille et sa simplicité permet une approche rapide sur le terrain.

Il ne sera retenu, dans le cas d'une estimation plus précise de la superficie foliaire rendue nécessaire par l'existence de fortes densités numériques du ravageur (œufs et stades larvaires d'*A. floccosus*, larves du premier stade de *Saissetia oleae*), que les formules suivantes avec les valeurs de l'écart-type résiduel (σ_r) et du coefficient de corrélation multiple (R) pour les deux espèces de *Citrus* étudiées.

— Pour les feuilles de *C. aurantium*

$$S_1 = 0,693\ 65 \cdot a^{0,971\ 3} \cdot b^{1,0147} \quad (\sigma_r = 1,35) \quad (7)$$

$$(R = 0,992)$$

$$S_2 = 0,102\ 5 + 0,663\ 7\ a \cdot b \quad (\sigma_n = 1,76) \quad (16)$$

$$(R = 0,962)$$

— Pour les feuilles de *C. deliciosa*.

$$S'_1 = 0,730\ 52 \cdot a^{0,960\ 6} \cdot b^{0,985\ 0} \quad (\sigma_r = 1,43) \quad (10)$$

$$(R = 0,992)$$

$$S'_2 = 0,139 + 0,657\ 9\ a \cdot b \quad (\sigma_r = 0,463\ 4) \quad (17)$$

$$(R = 0,997)$$

La valeur plus élevée du coefficient de corrélation multiple ($R = 0,992$) nous donne comme meilleur ajustement de la surface d'une feuille de *C. aurantium* l'utilisation de la formule (7).

Si on ne regarde que le coefficient de corrélation multiple, l'ajustement est meilleur pour le clémentinier ($R = 0,997$) en utilisant la formule (17).

Utilisation de l'abaque (fig. 5)

Les axes a et b représentent les longueur et largeur respectives du limbe et sur l'axe S , on lit la superficie correspondante de la feuille étudiée.

Exemple : Pour une feuille dont les dimensions sont $a = 6,5$ cm et $b = 2,6$ cm, l'aire du limbe est égale à $11,2$ cm², valeur trouvée à l'intersection de la droite xy et de l'axe S .

CONCLUSION

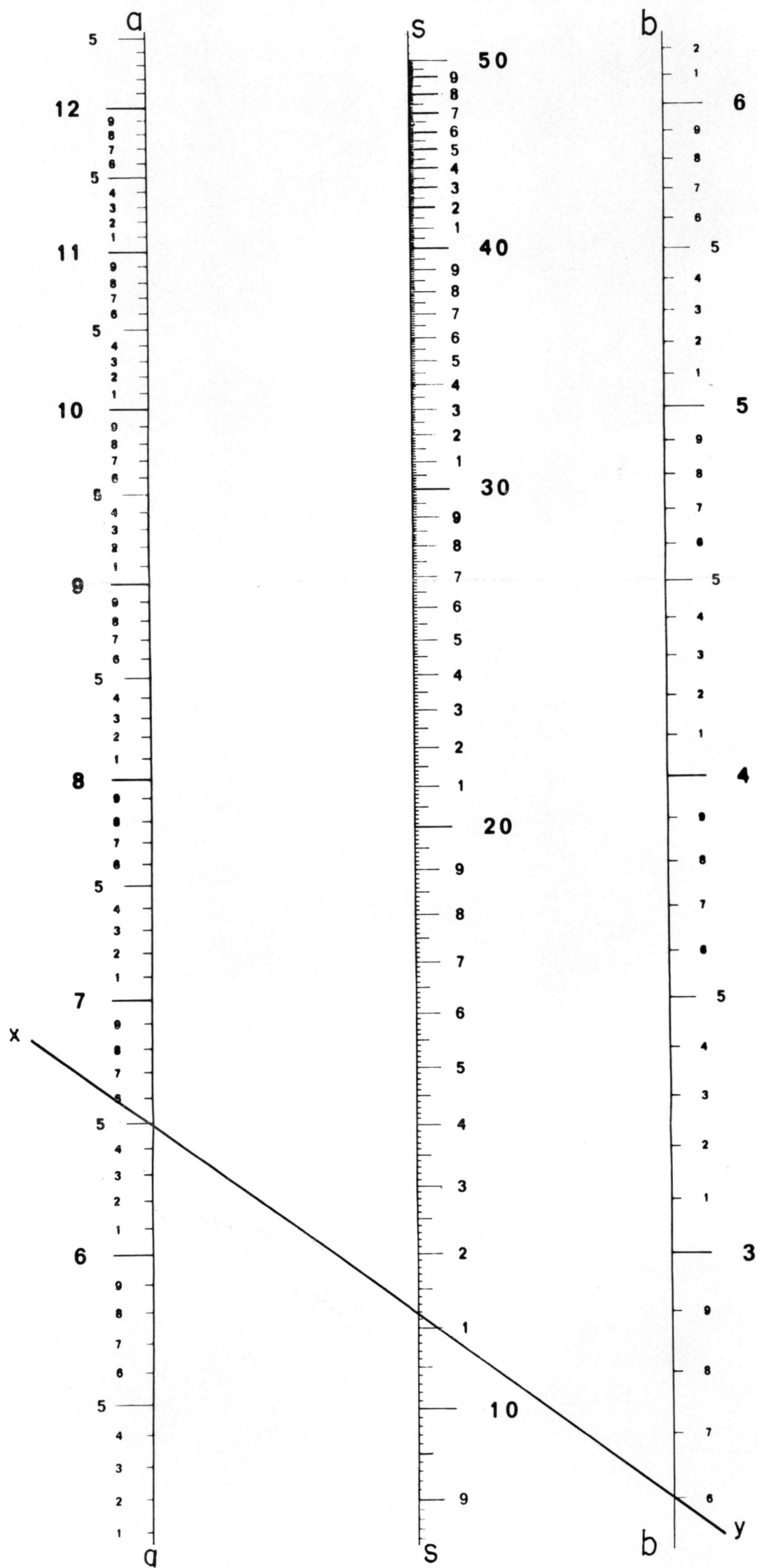
Cette étude a été rendue nécessaire pour nos travaux sur la dynamique des populations d'*A. floccosus* sur bigaradier et en particulier sur la quantification des différents facteurs écologiques de mortalité. L'établissement de ces formules permet une détermination précise et rapide, sur le terrain, de la surface foliaire et substituée à la notion de densité par feuille, celle plus rigoureuse de la densité par unité de surface, des différents stades d'un ravageur donné (Aleurodes, Cochenilles, Psylles).

Elle est susceptible, en fonction de l'étude de la dynamique du végétal indissociable de celle des ravageurs dans le cas d'Homoptères inféodés aux Agrumes et plus précisément de l'étude des fluctuations de populations d'un phytophage en relation avec l'apparition et l'importance des poussées de sève du végétal, de permettre d'aborder une écologie quantitative au niveau de l'arbre et de déboucher sur des notions de prévention écologique.

La mise au point de cette méthode d'estimation va nous permettre d'entreprendre l'étude de la dynamique des populations des Homoptères inféodés à toutes les variétés d'agrumes cultivées en Corse.

Reçu pour publication en janvier 1971.

FIG. 5. — Abaque permettant l'obtention de la surface foliaire d'une feuille de bigaradier en fonction de la formule (7)



SUMMARY

CONTRIBUTION TO THE STUDY OF THE POPULATION DYNAMICS
OF *CITRUS HOMOPTERA*. I. — ESTIMATION OF A LEAF AREA
IN RESPECT TO ITS TWO LARGER DIMENSIONS

For a best accuracy of the dynamics of the woolly whitefly, *Aleurothrix floccosus* MASK., a method for the rapid estimation of leaf areas is described for the leaves of *Citrus aurantium* and *C. deliciosa*. The relationships between leaf area and leaf dimensions, blade length (*a*) and blade width (*b*), can be expressed by two regression equations of the general type :

$$S = k \cdot a^{\alpha} \cdot b^{\beta}$$

$$S = k_1 + k_2 a \cdot b$$

These equations allow to substitute for the densities per leaf, the densities per cm² for all the non moving instars of insects such as psyllids, scales and whiteflies.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- CHAPOT H., 1964 a. Les Bigaradiers bouquetiers, première partie. *Al Awamia*, **10**, 55-95.
CHAPOT H., 1964 b. Les Bigaradiers bouquetiers, deuxième partie. *Al Awamia*, **12**, 17-49.
FREEMAN G. H., BOLAS B. D., 1956. A method for the rapid determination of leaf areas in the field. *Rep. E. Malling Res. Stn for 1955*, 104-107.
FREEMAN G. H., 1958. A comparison for the rapid determination of leaf areas in the field. *Rep. E. Malling Res. Stn for 1957*, 83-86.
GREGORY F. G., 1921. Studies in the energy relations of plants. I. The increase in area of leaves and leaf surface of *Cucumis sativus* L. *Ann. Bot.*, **35**, 93-123.
GROOM P., 1910. Remarks on the Oecology of *Coniferae*. *Ann. Bot.*, **24**, 241-269.
HOLLAND D. A., 1968. The estimation of total leaf area on a tree. *Rep. E. Malling Res. Stn for 1967*, 101-104.
HUXLEY J. S., TEISSIER G., 1936. Terminology of relative growth. *Nature*, **137**, 780-781.
KNUCHEL H., 1911. Spektrophotometrische Untersuchungen im Walde. *Mitteil. Schweiz. Zentralanstalt forstl. Versuchswesen*, **9**, 87.
MAGGS D. H., 1957. A photometer for estimating the area of samples of detached leaves. *Rep. E. Malling Res. Stn for 1956*, 107-108.
PICKETT W. F., 1934. Leaf area in relation to apple production. *Ann. Rept. Kansas Hort. Soc.*, **42**, 107-111.
RAMANN E., 1911. Blättergewicht und Blattflächen einiger Buchen. *Z. Forst. und Jagdwesen*, **43**.
RUBIN S. S., DANILEVSKAJA O. M., 1957. Détermination de la surface des feuilles des arbres fruitiers. *Botanich. Zhurnal*, **16**, 728-730 (en russe).
SAMPSON A. W., SAMISCH R., 1935. Growth and seasonal changes in composition of oak leaves. *Plant. Physiol.*, **10**, 739-751.
SPRENT P., 1969. *Models in regression and related topics*. Methuen London, 173 p.
TURRELL F. M., 1961. Growth of the photosynthetic area of *Citrus*. *Bot. Gaz.*, **122**, 4, 284-298.
TURRELL F. M., GARBER M. J., JONES W. W., COOPER W. C., YOUNG R. H., 1969. Growth equations and curves for *Citrus* trees. *Hilgardia*, **39**, 16, 429-445.
VYVYAN M. C., EVANS H., 1932. The leaf relations of fruit trees. I. A morphological analysis of the distribution of leaf surface on two nine-year old apple trees. *Jour. Pomol. Hort. Sci.*, **10**, 228-270.
VYVYAN M. C., 1935. The leaf relations of fruit trees. II. The census method for recording summer growth, with special reference to the apple. *Jour. Pomol. Hort. Sci.*, **13**, 202-219.
WILCOX J. C., 1937. Field studies of apple tree growth and fruiting. *Sci. Agr.*, **17**, 563-572, 573-586, 657-669.

MÉTABOLISME RESPIRATOIRE DE *PTEROMALUS PUPARUM* (HYM. CHALC.) AU COURS DU DÉVELOPPEMENT ET INFLUENCE DE LA DENSITÉ DE POPULATION LARVAIRE

M. BOULÉTREAU

Laboratoire d'Entomologie expérimentale et de Génétique, Équipe associée au C. N. R. S.,
16, Quai Claude-Bernard, 69 - Lyon

RÉSUMÉ

Parasitées par *Pteromalus puparum*, les chrysalides en diapause de *Pieris brassicae* présentent un fort accroissement de leur respiration. La consommation d'oxygène du système est due principalement aux parasites vivant à l'intérieur de l'hôte.

Au cours du développement, la respiration des larves de *Pteromalus* augmente et passe par un maximum vers le 5^e jour. Ensuite la consommation d'oxygène décroît et présente une courbe en U typique, correspondant à la nymphose.

Une augmentation de la densité de population provoque les effets suivants : la consommation d'oxygène augmente et tend vers un maximum tandis que le métabolisme individuel diminue ; la vitesse de développement est accrue. Cette accélération provient essentiellement d'un raccourcissement de la première période du développement c'est-à-dire de la période d'alimentation et de croissance des larves. Il semble que la surpopulation agit principalement en limitant la quantité de nourriture disponible.

INTRODUCTION

L'activité respiratoire au cours du développement est assez mal connue chez les insectes entomophages (CLAUSEN, 1950). Son étude se heurte à la difficulté de distinguer la respiration propre des parasites de celle de leur hôte, notamment dans le cas où le stade parasité correspond à une époque active de la vie de l'hôte. Ce dernier possède alors un métabolisme intense, sujet à de fortes variations.

La détermination précise des besoins en oxygène des parasites nécessite leur extraction de l'hôte, ce qui rend impossible la poursuite du développement et ne fournit qu'une valeur instantanée pour chaque individu ou chaque groupe d'individus. Un tel travail a notamment été effectué sur l'Ichneumonide *Nemeritis*, parasite d'*Ephestia*, par FISHER (1963) et sur le Chalcidien *Nasonia vitripennis* parasite de *Musca domestica* par RAY, HUNTER et STEPHENS (1954).

Dans le cas où l'hôte est parasité à un stade immobile où il ne s'alimente pas, il est possible d'envisager l'étude du métabolisme de l'ensemble hôte-parasite. Peu de travaux ont été faits sur ce sujet. Seul CHLODNY (1968) a établi de façon très globale un bilan énergétique au cours du développement de *Pimpla instigator* (Ichn.) et de *Pteromalus puparum* (Chalc.), tous deux parasites des nymphes de *Pieris brassicae*.

Il a paru intéressant d'étudier de manière plus détaillée l'évolution de l'activité respiratoire de *Pteromalus*. Chez cette espèce endoparasite grégaire, le nombre de larves vivant dans le même hôte est très variable et exerce une action considérable sur le développement, qui est accéléré par les densités de population élevées et conduit alors à des adultes plus petits (BOULETREAU et DAVID, 1967). Les mesures respirométriques permettent de suivre de l'extérieur les différentes étapes de la croissance de *Pteromalus* et peuvent ainsi contribuer à apporter des indications sur le mode d'action de la densité de population. C'est dans cette perspective qu'ont été entreprises les expériences qui seront décrites ici.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Des chrysalides de *P. brassicae* en diapause ont été mises en présence d'un nombre variable de femelles de *Pteromalus* pendant 24 heures. Ceci a permis d'obtenir des densités de population échelonnées entre 19 et 253 individus par hôte. Après la période de ponte, elles ont été placées individuellement dans les fioles de mesure d'un respiromètre (Respiromètre différentiel Gilson) à la température de 25°C, éclairées 14 heures sur 24, où elles sont restées jusqu'à la fin du développement des *Pteromalus*. Les mesures de consommation d'oxygène ont été effectuées chaque jour pendant 4 à 6 heures, à raison d'un relevé toutes les 30 minutes.

Des courbes témoins d'évolution de la respiration ont aussi été établies dans les mêmes conditions sur des chrysalides saines, en diapause ou non, à partir du jour de leur nymphose.

La signification de l'intensité respiratoire mesurée sera discutée plus loin, mais il convient de remarquer dès à présent que cette valeur correspond à l'activité respiratoire globale du système hôte-parasite. Une partie en revient donc à l'hôte lui-même, qui vit et respire encore durant les premiers jours. De plus, le poids de la chrysalide est supérieur à celui des parasites et constitue une partie variable du poids total mesuré. Il serait donc illusoire de calculer une intensité respiratoire relative en rapportant la valeur mesurée à ce poids total. C'est pourquoi les résultats ont été exprimés en microlitres d'oxygène absorbé par chrysalide parasitée ou par individu de *Pteromalus*.

RÉSULTATS EXPÉRIMENTAUX

Les résultats permettent d'étudier l'évolution de l'intensité respiratoire des chrysalides parasitées, de la comparer à celle des chrysalides saines et d'en préciser les principales caractéristiques. L'influence de la densité de population sera ensuite envisagée sur les caractères suivants : intensité respiratoire et quantité totale d'oxygène absorbée par le système hôte-parasite ; respiration individuelle de *Pteromalus* ; cinétique du développement.

1. — Respiration des chrysalides saines

L'évolution de l'intensité respiratoire des chrysalides saines est représentée sur la figure 1.

Dans le cas de chrysalides à développement direct (fig. 1 A) la courbe d'évolution de l'intensité respiratoire au cours de la nymphose montre la forme classique en U souvent décrite chez les holométaboles (FOURCHE, 1969).

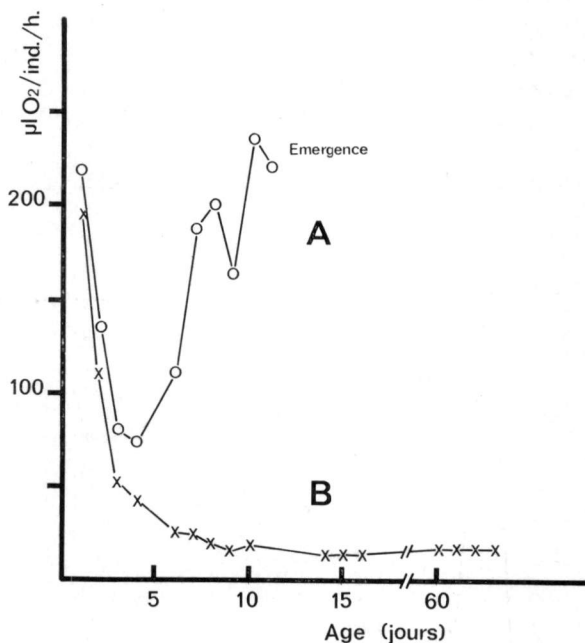


FIG. 1. — Consommation d'oxygène chez *Pieris brassicae* au cours de la vie nymphale

Courbe A : Chrysalides à développement direct

Courbe B : Chrysalides en diapause

Dans le cas de chrysalides en diapause (fig. 1 B), aucune reprise de l'activité respiratoire n'est enregistrée après la phase de diminution. Comme il est habituel chez les insectes en diapause (LEGAY, 1962), la nymphe présente alors une intensité respiratoire faible (15 à 20 microlitres par heure et par individu) qui reste stable pendant une très longue période. C'est pour cette raison que seules des chrysalides en diapause ont été utilisées pour l'expérimentation ultérieure.

2. — Évolution de l'intensité respiratoire au cours du développement des parasites

Un exemple est donné figure 2 (courbe A). Peu après la ponte, la présence des parasites se traduit par une nette augmentation de l'activité respiratoire, correspondant à la phase de croissance des larves. Après un pic très net, atteint vers le 5^e jour, l'IR décroît rapidement, passe par un minimum au cours de la nymphose et augmente ensuite avant l'émergence des adultes. On retrouve donc la courbe en U caractéristique de la nymphose des holométaboles.

Dans quelques cas l'intensité respiratoire montre une brusque augmentation (fig. 2, courbe B) et atteint un pic très élevé (plus de 450 microlitres par heure). Cette augmentation du métabolisme est de courte durée et après quelques jours, toute

activité respiratoire cesse pratiquement. Un tel accident entraîne la mort de l'hôte et celle des parasites et doit être attribué à une infection microbienne survenue après la ponte. Les microorganismes pathogènes peuvent avoir été introduits directement par l'ovipositeur de la femelle, comme cela est signalé chez un autre hyménoptère (BUCHER, 1963). On peut aussi supposer, avec BUCHER et WILLIAMS (1967), qu'une faible population bactérienne se trouve déjà dans l'hôte à l'état endémique et que les lésions provoquées par la piqûre ou par la présence des parasites déterminent une invasion de la chrysalide par les bactéries qui se multiplient alors rapidement.

Ces infections n'ont fait l'objet d'aucune étude particulière et ont été considérées

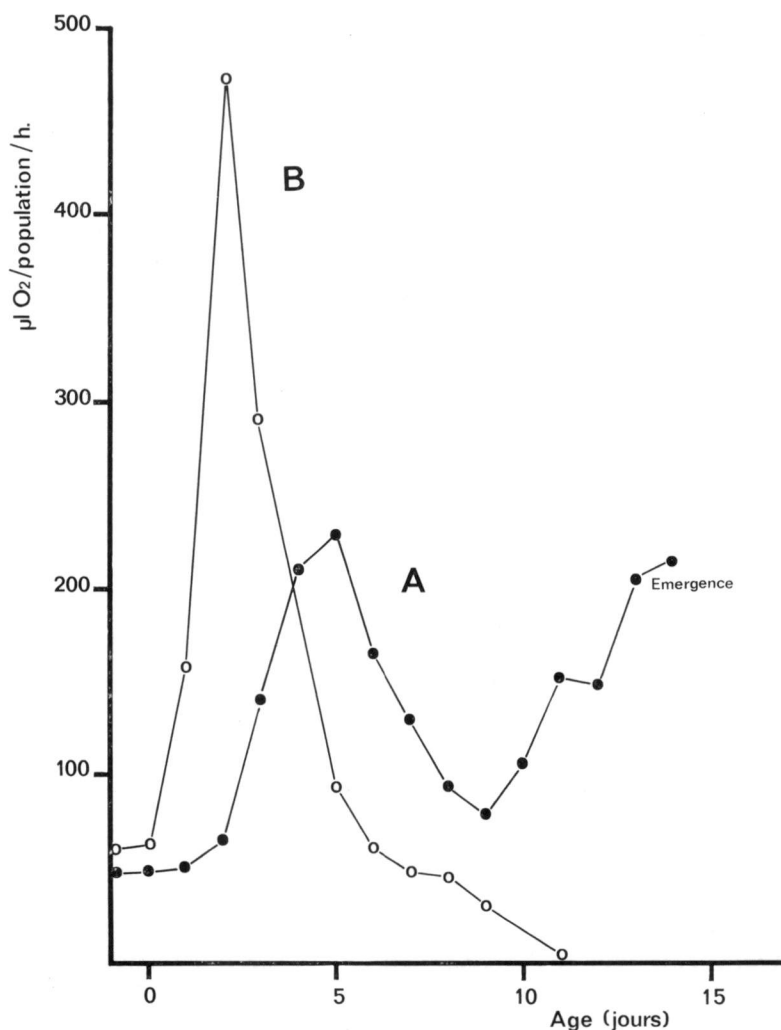


FIG. 2. — Exemples de courbes individuelles d'évolution de l'intensité respiratoire de chrysalides parasitées par *P. puparum*

Courbe A : Chrysalide ayant donné lieu à un développement normal des parasites
 Courbe B : Chrysalide ayant péri à la suite d'une infection bactérienne

comme une gêne sur le plan expérimental. La sélection rigoureuse des souches de *Pieris* utilisées permet de réduire considérablement leur fréquence.

Dans le cas général, la surface circonscrite par la courbe d'évolution de l'intensité respiratoire permet de procéder à une estimation de la quantité totale d'oxygène absorbée par le système *Pieris-Pteromalus* pendant la durée du développement des parasites.

Les caractéristiques les plus importantes des courbes obtenues sont donc les suivantes : intensité respiratoire maximale ; âge des larves au moment du pic respiratoire ; respiration totale au cours du développement, durée du développement. Les valeurs moyennes en sont indiquées dans le tableau I.

TABLEAU I

*Valeurs moyennes des paramètres caractéristiques des courbes
d'évolution de l'intensité respiratoire*

	Moyenne	Intervalle de confiance P = 0,05	Nombre de mesures
Densité de population	85,78	23,34	32
Intensité du pic	196,06 μ l/h	22,86	32
Quantité d'O ₂ absorbée	37,26 ml	3,30	32
Délai d'atteinte du pic	5,69 jours	0,52	32
Durée de développement	15,28 jours	0,69	32

Ces paramètres sont sujets à de fortes variations dues essentiellement aux différences de densité de population.

3. — *Influence de la densité de population sur la consommation d'oxygène des chrysalides parasitées*

L'intensité respiratoire maximale et la quantité totale d'oxygène absorbée au cours du développement varient fortement suivant la densité de population larvaire.

a) *Intensité respiratoire maximale.*

L'intensité maximale du pic respiratoire est d'autant plus élevée que la population est plus nombreuse (fig. 3). L'analyse statistique montre que cet accroissement n'est pas de type linéaire : la courbe semble tendre vers un plateau pour les fortes densités.

b) *Quantité d'oxygène absorbée au cours du développement.*

La quantité totale RT d'oxygène absorbée au cours du développement peut être décomposée en deux parties : la première, R₁, absorbée au cours de la première phase du développement comprise entre la ponte et le pic respiratoire ; la deuxième, R₂, consommée entre le pic et l'émergence des adultes. Ces 3 quantités sont évidemment liées par la relation suivante : $RT = R_1 + R_2$. Elles varient inégalement suivant la densité de population.

— La quantité RT (fig. 4 A) augmente de façon non linéaire avec la densité de

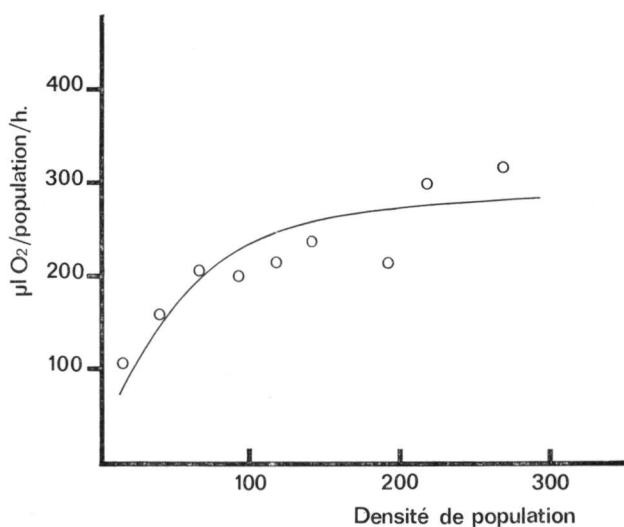


FIG. 3. — Variation de l'intensité du pic respiratoire maximale en fonction de la densité de population

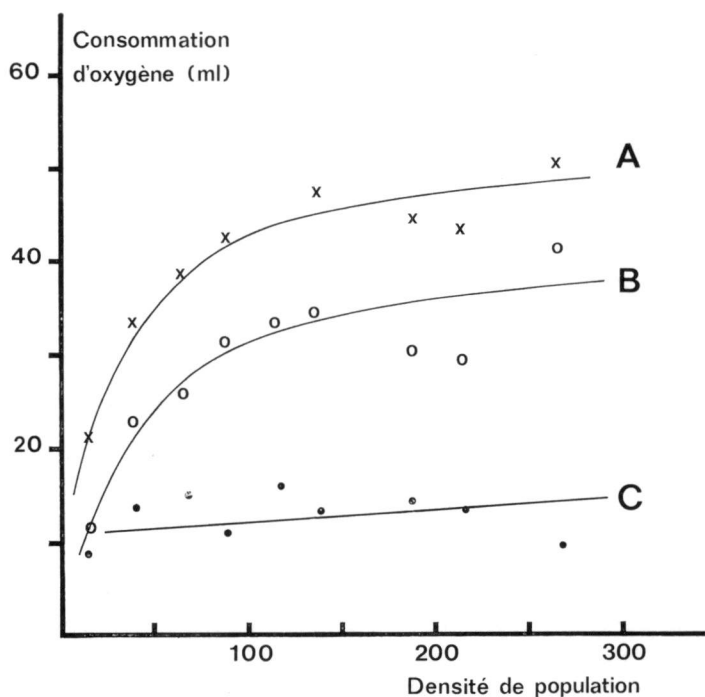


FIG. 4. — Influence de la densité de population sur la quantité d'oxygène consommée

- A : Au cours de l'ensemble du développement
 B : Au cours de la 2^e partie du développement
 C : Au cours de la première partie du développement

population et, comme l'intensité respiratoire, tend à se stabiliser aux densités élevées.

— La quantité R_2 (fig. 4 B) varie parallèlement à RT .

— La quantité R_1 (fig. 4 C) montre une variation beaucoup plus faible lorsque la densité de population augmente.

L'analyse de variance appliquée à ces résultats montre que l'effet de la densité de population est beaucoup plus marqué sur les quantités RT ($F = 10,5$, $P \text{ sup. } 99,9$) et R_2 ($F = 8,4$, $P \text{ sup. } 99,9$) que sur la quantité R_1 ($F = 2,7$, $P = 95$). En outre, la corrélation est très étroite entre RT et R_2 ($r = 0,96$) mais beaucoup moins nette entre RT et R_1 ($r = 0,57$).

Ces résultats indiquent que la variation enregistrée au niveau de la quantité d'oxygène absorbée au cours de l'ensemble du développement est essentiellement due à l'action de la densité de population sur la deuxième partie du développement.

4. — Densité de population et respiration individuelle des parasites

Le métabolisme individuel peut être estimé en rapportant la quantité d'oxygène mesurée au nombre de parasites. Ce calcul a été effectué sur l'intensité du pic respiratoire et sur la quantité totale d'oxygène absorbée au cours de l'ensemble du développement. La variation des deux coefficients obtenus en fonction de la densité de population est représentée sur la figure 5. L'intensité respiratoire individuelle maximale (courbe A) et la quantité totale d'oxygène absorbée par individu (courbe B) diminuent de façon parallèle lorsque la densité de population augmente. Elles tendent toutes deux vers une limite inférieure lorsque la densité est très élevée.

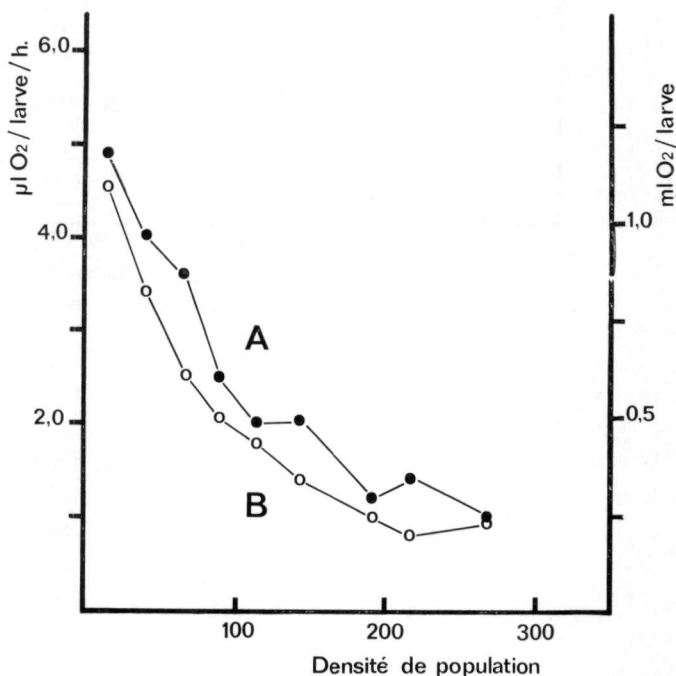


FIG. 5. — Variation du métabolisme respiratoire individuel des larves en fonction de la densité de population

Courbe A : Intensité du pic respiratoire maximale (microlitres/h/larve)

Courbe B : Quantité d'O₂ absorbée au cours du développement (ml/larve)

5. — *Influence de la densité de population
sur la cinétique du développement*

L'âge des larves au moment du pic respiratoire diminue nettement lorsque la densité de population augmente (fig. 6,A) : il passe de 7 à 3 jours lorsque l'effectif passe de 20 à 250 parasites par hôte. Ce résultat est à rapprocher de la réduction de la durée totale de développement observée sur les mêmes animaux (fig. 6 B). Les deux varia-

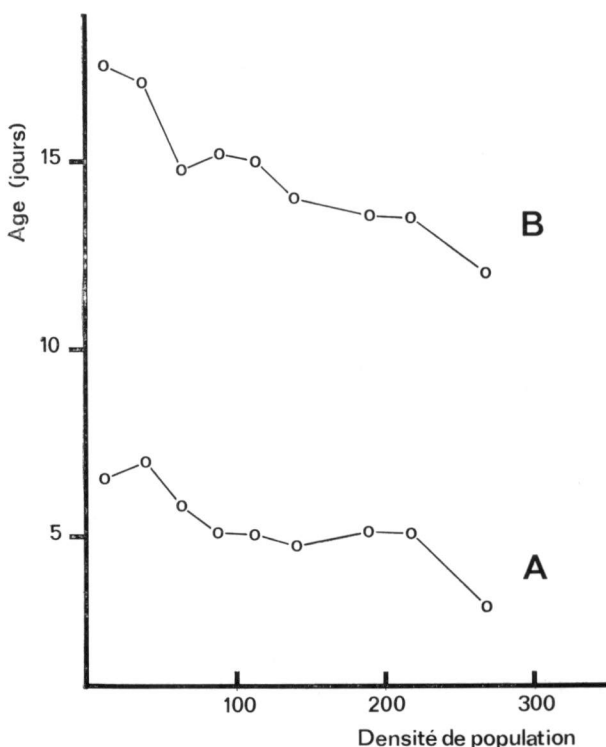


FIG. 6. — *Influence de la densité de population sur l'âge
lors du pic respiratoire (courbe A) et sur la durée de développement (courbe B)*

TABLEAU 2

*Paramètres des droites de régression de la variation
de l'âge au moment du pic d'intensité respiratoire maximale
et de la durée totale de développement en fonction de la densité de population*

	Durée de développement (jours)	Âge du pic (jours)
Moyenne	15,28	5,69
Corrélation	— 0,67	— 0,54
Coefficient de régression	— 0,019 8	— 0,012 0
Ord. à l'origine	16,976	6,718
n	32	32

tions sont de type linéaire (P sup. 95). Les coefficients des deux droites de régression calculées figurent dans le tableau 2.

L'analyse statistique montre que les pentes des deux droites ne sont pas significativement différentes ($t = 1,48$), ce qui signifie que l'action de la densité de population est la même sur l'âge au moment du pic respiratoire et sur la durée totale de développement. En d'autres termes, la durée séparant le pic de l'émergence des adultes est constante ($9,63 \pm 0,54$ jours) et indépendante de la densité de population.

DISCUSSION ET CONCLUSIONS

La chrysalide de *Pieris* et les parasites qu'elle contient constituent un système complexe dont l'activité respiratoire varie suivant le nombre et l'âge des larves de *Pteromalus*. L'étude de ces variations est intéressante par les renseignements qu'elle apporte sur différents points de la physiologie des parasites, mais la précision et les limites de la méthode employée demandent tout d'abord à être discutées.

Validité de la méthode

L'activité respiratoire mesurée correspond à la superposition de celle de l'hôte et de celle des parasites. Comme il n'est pas possible de les séparer sans perturber considérablement l'ensemble, on peut chercher à déterminer la part qui revient aux parasites eux-mêmes.

CHLODNY (1968), étudiant les systèmes *Pieris-Nemeritis* et *Pieris-Pteromalus*, admet que la part revenant à la chrysalide diminue du fait de sa consommation par les parasites. Selon lui, cette diminution serait approximativement compensée par une augmentation momentanée résultant de réactions de défense de l'hôte. Dès lors, les pertes métaboliques dues à l'hôte au cours du développement des parasites seraient comparables à celles d'une chrysalide saine durant la même période. L'auteur estime donc la respiration propre des parasites par la différence entre celle de la chrysalide parasitée et celle d'une chrysalide saine, tout en soulignant lui-même le caractère approximatif de cette correction.

Il n'est malheureusement pas possible de montrer expérimentalement comment évolue le métabolisme propre de l'hôte au cours du développement des parasites et s'il s'accompagne effectivement de réactions de défense consécutives à la piqure ou à la présence des œufs. Quelques remarques peuvent cependant être formulées à ce sujet.

En premier lieu, le développement des larves aboutit plus ou moins rapidement à vider la chrysalide de ses tissus vivants et ce n'est qu'aux faibles densités de population que ce vidage est incomplet. L'activité respiratoire propre de l'hôte, qui correspond à l'essentiel de la valeur mesurée au début du développement des parasites, s'amenuise donc rapidement et la correction de CHLODNY est certainement très surestimée.

En second lieu, on peut essayer d'estimer graphiquement la quantité d'oxygène absorbée par l'hôte en admettant, très schématiquement, que l'intensité respiratoire correspondante diminue linéairement entre le moment de la ponte, où elle repré-

sente la totalité de la valeur mesurée, et le moment de l'activité maximale des parasites, où elle serait nulle. La quantité ainsi obtenue est faible et inférieure à 10 p. 100 de la consommation au cours de l'ensemble du développement des parasites. Il est possible que l'imprécision qui en résulte soit plus forte aux faibles densités.

En troisième lieu, les essais de détermination séparée, à des âges variés, de l'intensité respiratoire des larves isolées et des restes de l'hôte ont fourni des résultats extrêmement variables. Ceux-ci montrent parfois une activité respiratoire non négligeable, qu'on peut attribuer à une oxydation passive ou à une certaine activité microbienne. Comme dans quelques cas cette activité a été supérieure à celle du système entier, la valeur mesurée est donc très différente de l'activité respiratoire réelle de l'hôte avant dissection. L'opération effectuée n'est sans doute pas étrangère à ce résultat aberrant et les valeurs obtenues de cette manière ne peuvent être prises en considération.

En définitive, il semble hasardeux de chercher à effectuer une quelconque correction sur les valeurs mesurées. Si l'on excepte les premiers jours du développement des larves, on peut considérer qu'elles fournissent une bonne estimation de l'activité métabolique des parasites eux-mêmes. De toute manière, l'ensemble de l'hôte et de ses parasites constitue un tout indissociable sur le plan des échanges gazeux avec l'extérieur.

Évolution de l'intensité respiratoire au cours du développement des parasites

L'aspect des courbes d'évolution de l'intensité respiratoire est celui qui a été décrit chez de nombreux holométaboles (BIALASZEWICZ, 1937 ; HSUEH et TANG, 1944 ; CHEN, 1951 ; SLAMA, 1959 ; FOURCHE, 1965, 1969 ; GRIGOLO et LAUDANI, 1968). Au cours de la croissance larvaire, l'intensité respiratoire montre une forte élévation. Elle décroît ensuite, passe par un minimum au cours de la nymphose, puis augmente de nouveau avant l'éclosion des adultes. C'est la classique courbe en U.

D'une façon générale l'intensité respiratoire croît, chez les insectes, parallèlement au poids des individus (CHEN, 1951 ; FOURCHE, 1965 ; GRIGOLO et LAUDANI, 1966 ; POUVREAU, 1968). On peut donc admettre que le pic respiratoire observé correspond à la période où les larves ont atteint leur taille maximale et cessent de s'alimenter, ce qui est confirmé par les études pondérales de croissance larvaire (BOULÉTREAU, en préparation).

Le pic respiratoire correspond donc à une étape importante et permet de distinguer deux phases dans le développement des parasites.

Les deux phases du développement et l'influence de la densité de population

La première partie du développement, entre l'éclosion des œufs et le pic, correspond à la période d'alimentation et de croissance des larves. La durée de cette période est d'autant plus brève et l'intensité respiratoire d'autant plus élevée que la population est plus nombreuse. Comme ces deux processus varient en sens inverse, il n'est pas étonnant qu'au cours de cette période se produise une certaine compen-

sation au niveau de la consommation d'oxygène qui reste relativement stable et indépendante de la densité de population.

La deuxième phase débute au moment du pic. Les larves ne s'alimentent plus, assimilent la nourriture stockée dans leur intestin moyen (GROSCH, 1948) et subissent la métamorphose. La durée de cette période est indépendante de la densité de population. On peut donc penser qu'elle est conditionnée par des facteurs internes et l'augmentation de la quantité d'oxygène absorbée quand la densité augmente résulte simplement du plus grand nombre d'individus qui respirent pendant une période constante.

Utilisation de l'hôte et mode d'action de la densité de population

D'une manière générale, la quantité totale d'oxygène absorbé et l'intensité respiratoire maximale augmentent avec la densité de population de façon non linéaire et, à partir de 100 à 150 individus, semblent tendre toutes deux vers une limite maximale. Cette valeur maximale correspond probablement à une limite de poids vers laquelle tend la population de parasites lorsque la densité devient forte (BOULETREAU, en préparation). En effet, la taille de l'hôte est limitée et le poids total des larves ne peut dépasser une certaine valeur correspondant à l'utilisation complète des tissus de l'hôte. Si la population est très nombreuse, les individus deviennent très petits et l'on peut supposer que l'activité respiratoire globale continue à augmenter légèrement, la surface totale d'échanges gazeux s'accroissant alors notablement bien que le poids ne varie plus (ELLENBY, 1945). Ceci pourrait expliquer que les courbes représentant la variation de la consommation totale d'oxygène ou de l'intensité respiratoire maximale en fonction de la densité de population ne présentent pas un palier très net, mais seulement un ralentissement de l'effet observé aux fortes densités.

En revanche, l'activité respiratoire individuelle, que ce soit au moment du pic maximal ou au cours de l'ensemble du développement, diminue au contraire lorsque la densité de population augmente. Cette diminution reflète la réduction de taille des individus qui se produit alors (BOULETREAU et DAVID, 1967). Elle est de type non linéaire et tend vers une limite inférieure qui correspond à celle du poids individuel.

En définitive, malgré le caractère peu précis des valeurs obtenues au début du développement des parasites, les mesures d'intensités respiratoires fournissent des indications intéressantes sur la physiologie du système hôte-parasite et permettent notamment de repérer l'état de développement des parasites sans les observer directement.

Il semble que l'action directe de la densité de population s'exerce uniquement sur la première partie du développement, les variations observées ultérieurement n'étant que la conséquence de cet effet primaire. La densité de population agirait en limitant la quantité de nourriture disponible pour chaque larve. Une population plus nombreuse épuiserait l'hôte plus rapidement et les larves seraient soumises à un jeûne plus précoce susceptible de stopper leur croissance et d'accélérer leur métamorphose. Une telle action du jeûne a été mise en évidence chez la *Drosophile* (BAKKER, 1951 ; BODENSTEIN, 1953 ; ROBERTSON, 1963 ; FOURCHE, 1965). La densité de population interviendrait donc essentiellement en modifiant quantitativement la nutrition des larves. Toutefois, il n'est pas exclu que les contacts très étroits qui se

produisent entre les larves lorsqu'elles sont nombreuses dans le même hôte puissent exercer par voie nerveuse une action stimulatrice sur la métamorphose et induire celle-ci dès que la nourriture se trouve épuisée (BOULETREAU et DAVID, 1967).

Reçu pour publication en janvier 1971.

REMERCIEMENTS

Je remercie M. E. BILIOTTI, Chef du Département de Zoologie de l'I. N. R. A., pour son aide et ses conseils dans la réalisation de ce travail. Je remercie également M^{me} M. F. ARENS, biologiste, C. N. R. S., pour sa participation aux mesures respirométriques.

SUMMARY

RESPIRATORY METABOLISM OF *PTEROMALUS PUPARUM* (HYM. CHALC.) DURING PREIMAGINAL DEVELOPMENT AND INFLUENCE OF LARVAL CROWDING

When parasitized by *P. puparum*, diapausing pupae of *P. brassicae* show a high increase of their respiratory rate. The oxygen consumption of the whole system is mainly due to that of the parasites living inside of the host.

During the development, the respiration of larvae increases and reaches a pike towards the fifth day. Then the oxygen consumption decreases and shows a typical U-shaped curve corresponding to metamorphosis.

Crowding of *Pteromalus* larvae results in the following effects : the total oxygen consumption increases and seems to tend to a maximum level but the individual metabolic rate decreases ; the development rate is accelerated. The acceleration of the development at high population densities is mainly due to the reduction of the first period of the development, corresponding to the growth and feeding period of larvae. It is suggested that crowding acts on the development through the limitation of the amount of available food.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- BAKKER K., 1951. Feeding period, growth and pupation in larvae of *Drosophila melanogaster*. *Ent. exp. appl.*, **2**, 171-186.
- BIALASZEWICZ K., 1937. Recherches sur le métabolisme chimique et énergétique au cours du développement des Insectes. V. Sur la respiration du Ver à Soie et sur l'effet calorifique de la croissance. *Acta biol. exp. Vars.*, **11**, 228-272.
- BODENSTEIN F. W., 1953. Postembryonic development. *Insect Physiology*, ed. Roeder 822-865.
- BOULETREAU M., 1971. Croissance larvaire et utilisation de l'hôte chez *Pteromalus puparum* (Hym. Chalc.) : influence de la densité de population (sous presse).
- BOULETREAU M., DAVID J., 1967. Influence de la densité de population larvaire sur la taille des adultes, la durée de développement et la fréquence de la diapause chez *Pteromalus puparum* L. (Hym. Chalcidien). *Entomophaga*, **12**, 187-197.
- BUCHER G. E., 1963. Transmission of bacterial pathogens by the ovipositor of a hymenopterous parasite. *J. Insect Pathol.*, **5**, 277-283.
- BUCHER G. E., WILLIAMS R., 1967. The microbial flora of laboratory cultures of the greater wax moth and its effect on rearing parasites. *J. invert. Pathol.*, **9**, 467-473.
- CHEN P. S., 1951. A comparative study of the oxygen consumption in the three lethal mutants « ltr », « lgl », « lme » of *Drosophila melanogaster*. *Z. indukt. Abstammungs Vererb.*, **84**, 38-70.
- CHLODNY J., 1968. Evaluation of some parameters of the individual energy budget of the larvae of *Pteromalus puparum* (L.) (Pteromalidae) and *Pimpla instigator* (FABR.) (Ichneumonidae). *Ekologia Polska*, **16**, 505-513.

- CLAUSEN C. P., 1950. Respiratory adaptations in the immature stages of parasitic insects. *Arthropoda*, **1**, 197-224.
- ELLENBY C., 1945. Oxygen consumption of prepupae of *Drosophila melanogaster* in relation to the surface area of the puparium. *J. exp. Biol.*, **21**, 39-45.
- FISHER R., 1963. Oxygen requirements and the physiological suppression of supernumerary insect parasitoids. *J. exp. biol.*, **40**, 531-540.
- FOURCHE J., 1965 a. La respiration larvaire chez *Drosophila melanogaster*. Consommation d'oxygène au cours de la croissance. *C. R. Acad. Sci.*, **261**, 2965-2968.
- FOURCHE J., 1965 b. La respiration larvaire chez *Drosophila melanogaster*. Consommation d'oxygène au cours du jeûne. *C. R. Acad. Sci.*, **261**, 3478-3481.
- FOURCHE J., 1969. Les relations entre la consommation d'oxygène et la morphogenèse au cours du développement de deux insectes holométaboles : *Drosophila melanogaster* (Diptère), *Bombyx mori* (Lépidoptère). *Ann. Biol.*, **8**, 333-367.
- GRIGOLO A., LAUDANI U., 1966. Osservazioni sul consumo di ossigeno durante il ciclo vitale di *Musca domestica* L. *Rivista Parassitol.*, **27**, 39-46.
- GROSCHE D. S., 1948. Growth in *Habrobracon*. *Growth*, **12**, 243-254.
- HSUEH T. Y., TANG P. S., 1944. Physiology of the silkworm. I. Growth and respiration of *Bombyx mori* during entire life cycle. *Physiol. Zool.*, **17**, 71-78.
- LEGAY J.-M., 1962. Caractères des processus métaboliques au cours de la diapause des Insectes. *Ann. Nutr. Alim.*, **16**, 65-89.
- POUVREAU A., 1968. Évolution de la consommation d'oxygène au cours du développement larvaire des ouvrières de *Bombus terrestris* L. (Hymenoptera, Apoidea, Bombinae). *Ann. Abeille Fr.*, **11**, 5-14.
- RAY D. T., HUNTER F., STEPHENS G. J., 1954. Sex differences and oxygen consumption in the wasp *Mormoniella*. *Genetics*, **39**, 989.
- ROBERTSON F. W., 1963. The ecological genetics of growth in *Drosophila*. 6. The genetic correlation between the duration of the larval period and body size in relation to larval diet. *Genet. Res. Camb.*, **4**, 74-92.
- SLAMA K., 1959. Total metabolism during development of sawflies. *Acta Soc. Entomol. Cechoslov.*, **56**, 113-125.
-

INFLUENCE DE LA TEMPÉRATURE ET DE LA LUMIÈRE SUR L'EFFICACITÉ STÉRILISANTE DU TEPA SUR LES FEMELLES DE *DACUS OLEAE* GMEL.

E. FYTIZAS ⁽¹⁾ et B. MAZOMENOS

Centre des Recherches nucléaires « Democritos »,
Aghia Paraskevi-Attiki (Grèce)

RÉSUMÉ

L'action de la lumière et de la température sur le Tapa a été étudiée par l'examen des ovaires des femelles de *Dacus oleae* traitées. La température élevée (32°C et 39°C) ainsi que le prolongement (8 jours) de l'exposition du Tapa à 25°C, diminuent considérablement son efficacité stérilisante ; la lumière, même à l'intensité de 3 500 Lux, n'a qu'une faible action sur le Tapa.

INTRODUCTION

Dans une expérience précédente (FYTIZAS, 1967 a), nous avons examiné l'influence de quelques facteurs biotiques sur l'action stérilisante du Tapa (*tris* (1-aziridinyl) prophine-oxyde) pour les femelles de *Dacus oleae* GMEL. Les facteurs considérés (âge et provenance des femelles traitées) n'agissaient pas sur le chimiostérilisant, mais pouvaient modifier l'efficacité stérilisante, puisque quelques individus d'âge ou de provenance différents présentèrent une résistance à la stérilisation plus grande ou plus petite que les autres individus.

BEROZA et BOŘKOVEC (1964) signalèrent l'intérêt qu'il y aurait à déterminer les différents facteurs abiotiques ayant une action directe sur la décomposition d'un chimiostérilisant ; d'après ces auteurs, la stabilité, ou persistance, des chimiostérilisants, lors de leur application, pourrait entraîner le succès ou l'échec de la chimiostérilisation. En utilisant la colorimétrie, la titrimétrie et la chromatographie sur couche mince, ces deux chercheurs purent démontrer l'influence de la température

(1) Adresse actuelle : Institut Phytopathologique Benaki, Kifissia-Athènes, Grèce.

et du pH du milieu sur la décomposition du Tapa et du Metapa ; l'exposition des solutions contenant le chimiostérilisant à la lumière ne donne pas, par contre, des résultats permettant de prouver son influence sur la décomposition des deux substances.

Des trois températures, utilisées dans l'expérience de BEROZA et BOKŘOVEC, seule celle de 25°C intéressait les essais biologiques en laboratoire et la chimiostérilisation en plein champ ; les deux autres (3°C et 50°C) n'ont d'intérêt que pour l'étude chimique des chimiostérilisants. Dans les oliveraies grecques, la température oscille en moyenne entre 25°C et 40°C pendant l'été et entre 10°C et 25°C pendant l'automne et le printemps. Dans la perspective d'une application éventuelle de la chimiostérilisation en Grèce, il serait intéressant de savoir si la température et la lumière dans les conditions normales de l'oliveraie n'ont pas un effet décisif sur les chimiostérilisants. D'autre part il serait opportun de procéder au contrôle de l'efficacité d'un chimiostérilisant par des moyens plus simples que ceux d'une analyse chimique, contrôle qui n'exigerait ni un laboratoire bien équipé ni du personnel qualifié, comme c'est, par exemple, le cas pour le contrôle basé sur les essais biologiques d'un chimiostérilisant sur des insectes. C'est ce qui fait le sujet du travail que nous présentons.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Nous avons utilisé pour l'expérience des femelles de *Dacus oleae* provenant d'un élevage effectué selon le procédé de TZANAKAKIS (1966) sur milieu artificiel pour larves. Au moment du traitement, les femelles étaient âgées de 15 jours et placées dans des cages de 30 × 30 × 30 cm (20 femelles par cage).

Le Tapa, dilué à 0,01 p. 100 dans du sirop (sucre : eau, 1 : 1), était exposé à des températures différentes ou une lumière d'intensité variée pendant un certain temps ; dans le premier cas la solution était placée dans une étuve à température constante ⁽¹⁾ et à l'abri de la lumière (intensité lumineuse 0 Lux), tandis que dans le second cas, elle était exposée à la température du laboratoire (25°C) et à la lumière des tubes au néon d'une photopériode de 12 heures ; l'intensité lumineuse correspondant à la nuit (0 Lux), à la lumière par temps couvert (600 Lux) et à celle des jours ensoleillés (3 500 Lux) était mesurée à l'aide d'un photomètre ⁽²⁾. Après l'exposition à la température ou à la lumière, des gouttelettes de la solution (de 10 à 20 mg) étaient placées sur du papier paraffiné et offertes aux insectes pendant 24 heures. Un échantillon de la solution sirupeuse ainsi qu'une solution aqueuse du Tapa à 0,01 p. 100 furent gardés pour la mesure de leur pH pendant 10 jours au moyen d'un pHmètre Beckman, modèle 76.

Tout le long de l'expérience, sauf le jour du traitement, les insectes recevaient la nourriture pour les adultes des Trypetides (levure hydrolysée : sucre : eau, 1 : 4 : 5). La température et l'humidité relative du laboratoire furent constamment maintenues à 25°C ± 1°C et 58-64 p. 100 respectivement.

Le contrôle de l'efficacité stérilisante du Tapa s'effectuait au bout des 8 jours qui suivent l'administration du chimiostérilisant. Comme critère de l'efficacité, fut utilisé l'effet cytotoxique sur les ovaires des femelles traitées. D'après des expériences précédentes nous savions que le Tapa à 0,01 p. 100 porte son action cytotoxique sur la presque totalité des *Dacus* femelles (FYTIZAS, 1967) et que la destruction des ovarioles, commençant par les oocytes les plus mûrs, s'achève le 6^e jour (FYTIZAS et BACOVANNIS, 1968). La distinction entre les ovarioles dégénérées et les normales est nette à un grossissement de × 50. Pour l'évaluation des résultats après l'exposition de la solution du Tapa à la température et à la lumière, nous avons construit la courbe de cytotoxicité avec des solutions sirupeuses de Tapa à 0,010 p. 100, 0,0075 p. 100, 0,005 p. 100 et 0,0025 p. 100, solutions offertes pendant 24 heures, peu après leur préparation à des femelles de *Dacus*.

⁽¹⁾ Precision Scientific, General Electric.

⁽²⁾ Standard Luxmeter, Type I, Karl Kolb, Frankfurt/Main.

RÉSULTATS

Des données expérimentales et dans les conditions de ce travail, on peut constater que :

1° le Tepas, dilué dans le sirop et offert aux femelles de *Dacus* le jour même de la préparation de la solution, détruit les oocytes immatures et le germinarium, lorsqu'il est employé à des concentrations allant de 0,01 p. 100 à 0,005 p. 100. Son action cytotoxique, exprimée en pourcentage des ovaires atteints, est fonction des concentrations, exprimées en pourcentage du Tepas dans le sirop servant de nourriture aux femelles pendant un jour (tabl. 1) ; le rapport entre ces deux pourcentages paraît suivre les mêmes lois que la mortalité chez les insectes par rapport aux concentrations des insecticides organochlorés et organophosphorés (fig. 1).

TABLEAU I

Action cytotoxique du Tepas, offert aux femelles de Dacus oleae, le jour même de la préparation de la solution sirupeuse

Concentration du Tepas dans le sirop-nourriture des femelles (%)	Nombre des femelles traitées	Nombre des femelles ayant des ovaires endommagés	Pourcentage des femelles ayant des ovaires endommagés
0,01	97	85	87,7
0,007 5	70	41	58,6
0,005 0	61	27	44,2
0,002 5	88	0	0

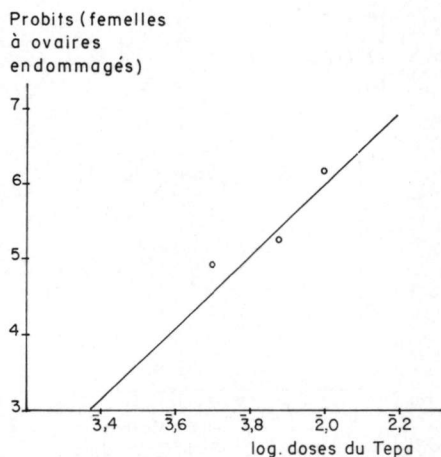


FIG. 1. — Courbe de la cytotoxicité chez les femelles de *D. oleae* ; probits du pourcentage des femelles à ovaires endommagés par rapport au log. des concentrations du Tepas dans le sirop (sucre : eau, 1 : 1) offert aux femelles le 15^e jour de leur sortie.

2° L'exposition à la lumière ou à la température d'une solution de Tepsa à 0,01 p. 100 diminue l'efficacité stérilisante de cette substance ; une partie des femelles traitées ne fut pas atteinte, tandis qu'une autre avait, au bout de 8 jours, les ovaires ou quelques ovarioles seulement endommagés. Un cas intéressant fut celui des ovaires dont toutes les gaines ovariennes furent détruites, sans que pour autant la cytotoxicité puisse atteindre les oogonies ; douze jours après l'administration du Tepsa, quelques ovarioles possédaient de nouveau des gaines ovariennes. Dans le pourcentage des femelles à ovaires endommagés, furent ajoutées les femelles à ovaires partiellement atteints.

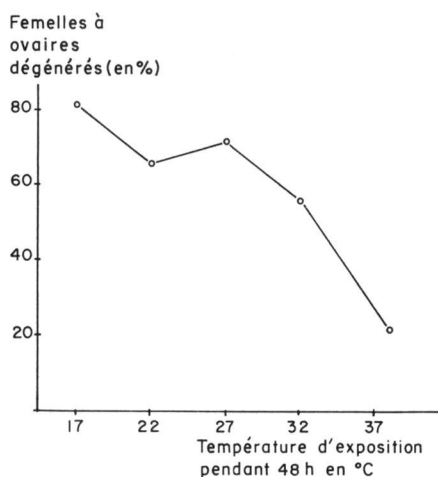


FIG. 2. — Action cytotoxique du Tepsa à 0,01 p. 100 exposé à différentes températures pendant 48 heures avant d'être offert aux femelles de *Dacus*
Séjour dans des étuves à température constante, à l'abri de la lumière

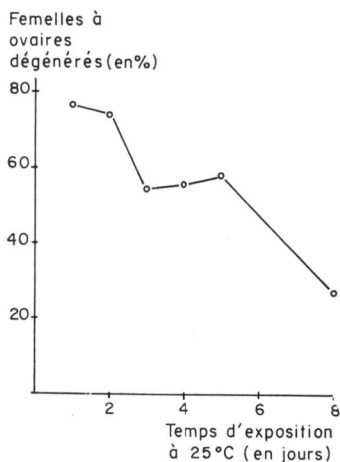


FIG. 3. — Action cytotoxique du Tepsa à 0,01 p. 100, exposé à 22°C pendant 1 à 8 jours avant d'être offert aux femelles de *Dacus*
Séjour en étuve à température constante, à l'abri de la lumière

3° Les températures de 32°C et de 39°C agissant pendant 48 heures sur la solution sirupeuse du Tepas à 0,01 p. 100 diminuèrent considérablement son action stérilisante (fig. 2) ; la température de 39°C, par exemple, a pu réduire l'efficacité du Tepas à un niveau qui, d'après la courbe de la cytotoxicité (fig. 1), correspondait à celle d'une concentration de 0,0042 p. 100 offerte aux insectes le jour même de la préparation de la solution.

4° A la température de 25°C, le Tepas commença à perdre son efficacité après le 3^e jour de l'exposition à cette température (fig. 3) ; du 3^e au 5^e jour, la diminution de l'action stérilisante resta au même niveau. Une exposition de 8 jours à 25°C donna à peu près les mêmes résultats qu'une exposition de 48 heures à 39°C.

5° La lumière paraît aussi avoir une action sur le Tepas ; ce facteur pourtant n'a pas la même importance que la température. L'exposition à la lumière à intensités différentes n'a pas donné des résultats nets ; il a fallu exposer à la lumière le sirop contenant le Tepas pendant 8 jours pour trouver des différences quant à l'action cytotoxique ; ces différences apparurent lorsque l'intensité de la lumière prit des valeurs aussi éloignées l'une de l'autre que 0 600 et 3 500 Lux (tabl. 2).

TABLEAU 2

*Action cytotoxique du Tepas à 0,01 p. 100,
exposé pendant 8 jours à différentes intensités lumineuses
(Température pendant l'exposition : 25°C)*

Intensité lumineuse (en Lux)	Pourcentage des femelles dont les ovaires furent atteints (%)
0	4,7
600	13,2
3 500	25,0

DISCUSSION ET CONCLUSIONS

La méthode biologique, utilisée au cours de notre expérience, a permis d'évaluer approximativement l'efficacité stérilisante du Tepas sur les femelles de *Dacus*, après l'action sur cette substance de deux facteurs climatiques ; pourtant elle ne donne pas d'informations sur le mode de décomposition de ce chimiostérilisant. Les méthodes d'analyse chimique, utilisées par BEROZA et BOŽKOVEC (1964) permettent l'étude du mode de décomposition du Tepas et de la destruction des groupes fonctionnels de sa molécule ; ces auteurs admettent pourtant que, même en combinant les résultats obtenus par les trois méthodes utilisées, ils n'arrivent pas à donner une image entièrement quantitative de la dégradation du Tepas.

Comme réponse des insectes au stimulus (chimiostérilisant), nous avons utilisé les effets cytotoxiques sur les ovaires des femelles traitées, critère net et facile à

discerner. Au cours de nos expériences précédentes, le Tapa à 0,01 p. 100, administré peu après sa dilution dans le sirop, détruisait toutes les cellules-mères des ovaires de la plus grande partie des femelles traitées (FYTIZAS, 1967 ; FYTIZAS et BACOVANNIS, 1968) ; ainsi le phénomène de la dégénérescence était irréversible. Au cours de cette expérience, l'exposition à la lumière et surtout à la température d'une solution de Tapa à 0,01 p. 100, diminuait son efficacité stérilisante en entraînant dans certains cas la reprise de l'ovogenèse chez quelques oogonies et la réapparition des gaines ovariennes ; cette reprise pourtant ne rend pas pour autant le critère de la cytotoxicité moins net : l'apparition tardive des nouvelles gaines ovariennes mais surtout la forme bizarre des ovaires appartenant à des femelles âgées de 27 jours et ressemblant vaguement à ceux des femelles âgées de 5 jours, ne permettent pas de confondre les ovaires normaux avec ceux où la reprise de l'ovogenèse a eu lieu.

Au cours de nos expériences précédentes, nous avons remarqué maintes fois que chez les femelles normales de *Dacus oleae*, issues de l'élevage artificiel, le taux des ovaires mal formés (dus apparemment à des défauts physiologiques) dépassait rarement 2 p. 100 ; l'utilisation par conséquent de femelles-témoins pour le contrôle de l'efficacité n'est pas nécessaire.

Le Tapa utilisé avait auparavant séjourné pendant 36 mois dans un réfrigérateur à 4°C, sans que son action stérilisante soit diminuée. Mais, une fois qu'il est dilué dans l'eau ou dans du sirop et exposé aux températures ordinaires, son pouvoir stérilisant est altéré. Dans les conditions expérimentales de ce travail, l'exposition du Tapa, dilué dans du sirop, à la lumière réduisait faiblement son action cytotoxique, tandis que l'action de la température s'exerça d'une façon plus prononcée ; son exposition à 25°C pendant 8 jours ou à 39°C pendant 2 jours réduisait presque de 60 p. 100 son action cytotoxique. BEROZA et BOŽKOVEC (1964) trouvent que la lumière est sans effet sur la décomposition du Tapa en dilution dans l'eau et que l'exposition de cette substance à 25°C devrait durer 31 jours pour que la moitié soit décomposée ; le pH de la solution aqueuse augmentait au fur et à mesure que la décomposition du Tapa

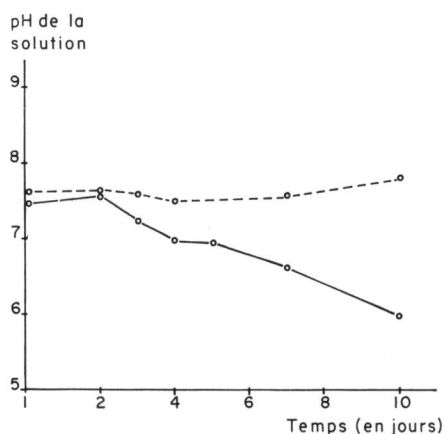


FIG. 4. — Modification du pH des solutions de Tapa à 0,01 p. 100 en fonction du temps
 en trait plein: Solution du sirop (sucre : eau, 1 : 1)
 en tirets: Solution aqueuse
 (pH de l'eau avant l'addition de Tapa : 7,40)

progressait, passant de 6,8 à 8,45 au bout des 31 jours. D'après les résultats que nous avons eus, le pH de la solution sirupeuse contenant le Tapa à 0,01 p. 100 diminue dès le 4^e jour et baisse à 5,9 au bout de 10 jours (fig. 4) ; la diminution du pH pourrait être due à la fermentation du sucre. La différence de modification du pH dans les deux solutions (solution aqueuse et solution sirupeuse), comme le montre la figure 4, aurait peut-être comme conséquence une différence dans la vitesse de dégradation du Tapa et la diminution de son action stérilisante ; cette différence pourrait expliquer la différence entre nos résultats et ceux obtenus par BEROZA et BOŘKOVEC. D'autre part, la méthode biologique, que nous avons utilisée, contrôle l'efficacité stérilisante du Tapa sans tenir compte de son mode ou de ses modes de décomposition et de la destruction des groupes fonctionnels de cette substance ; au cours de l'exposition du Tapa à la température et à la lumière, des modifications à la molécule du chimio-stérilisant, autres que celles décelées par les méthodes chimiques utilisées par BEROZA et BOŘKOVEC, pourraient se produire.

Reçu pour publication en janvier 1971.

SUMMARY

TEMPERATURE AND LIGHT INFLUENCES ON STERILANT EFFICACY OF TEPA ON *DACUS OLEAE* GMEL. FEMALES

Temperature and light influences on sterilant efficacy of Tapa was studied by the cytotoxic effects of this chemosterilant on ovaries of 15 days old *Dacus oleae* females.

Tapa, in sirup diluted to 0,01 p. 100 (sugar-water 1 : 1) was exposed during a certain time at different temperatures (17°C-22°C-32°C and 39°C) or at different intensities of light (0, 600, 3 500 Lux) and was offered after at the *Dacus* females during 24 hours.

From obtained results it can be stated that :

1. Temperature carries out a certain action on Tapa ; this action depends of temperature and exposure duration. The principal decrease of the sterilant efficacy (60 p. 100 approximatively) appeared after an exposure at 25°C during 8 days or at 39°C during 2 days.

2. Light had a more light action, its effect appeared after 8 days of exposure.

Then authors comment the biological method used during this experience according to the chemical analysis used in the same intention by other workers. Biological method can control the sterilant efficacy of Tapa, yet without informations on the chemosterilant decomposition, including all modifications that molecule of a chemosterilant can undergo and at the condition that these modifications decrease the substance efficacy, they present a scope of losses more real, inducted by climatological factors such as temperature and light.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- BEROZA M., BOŘKOVEC A. B., 1964. The stability of tepa and other aziridine chemosterilants. *J. Med. Chem.*, **7**, 44-49.
- FYTIZAS E., 1967. Action du Tapa sur les adultes de *Dacus oleae* GMEL. (Diptera : *Tephritidae*), en fonction des quantités du chimio-stérilisant utilisées. *Ann. Inst. Phytopath. Benaki*, **8** (1), 32-46.
- FYTIZAS E., 1967 a. Influence de quelques facteurs sur les femelles de *Dacus oleae* GMEL. (Diptera : *Tephritidae*). *Meded. Rijksfac. Landbouw. Gent*, **32**, 717-725.
- FYTIZAS E., BACOYANNIS A., 1968. Action du Tapa sur des femelles de *Dacus oleae* sexuellement mûres. *Meded. Rijksfac. Landbouw. Gent*, **330**, 917-925.
- TZANAKAKIS M. E., ECONOMOPOULOS A. P., TSITSIPIS J. A., 1966. Improved artificial food media for larvae of *Dacus oleae* (GMELIN) (Diptera : *Tephritidae*). *Z. angew. Entomol.*, **58**, 373-383.

DÉVELOPPEMENT DANS LES OLIVES DES LARVES DE *DACUS OLEAE* ISSUES DE PARENTS ÉLEVÉS AU STADE LARVAIRE SUR UN SUBSTRAT NUTRITIF ARTIFICIEL

E. FYTIZAS ⁽¹⁾ et B. MAZOMENOS

Centre de Recherches nucléaires « Democritos »,
Aghia Paraskevi-Attiki (Grèce)

RÉSUMÉ

Ce travail porte sur le développement dans les olives de la descendance d'une population de *Dacus oleae*, issue d'un élevage sur substrat nutritif artificiel pour larves. Les adultes de ce stock d'insectes furent mis en contact avec des olives, des tiges d'olivier portant des tumeurs et des feuilles d'olivier ainsi qu'avec des *Dacus* adultes « sauvages » ; malgré ces tentatives de contamination, le développement larvaire de la descendance dans les olives s'est maintenu à des niveaux très bas, tandis que la longévité des adultes ne fut pas atteinte.

INTRODUCTION

L'élevage de *Dacus oleae* sur son substrat nutritif naturel, les olives, envisagé par plusieurs chercheurs et décrit en détail par SACANTANIS (1953) ne peut malheureusement pas être maintenu pendant toute l'année : les olives ne peuvent être utilisées pour le développement des larves que pendant quelques mois ; dès l'hiver, les olives, restées sur les arbres, deviennent de plus en plus rares et on ne connaît pas jusqu'à présent de méthode pour les conserver en bon état plus de 7 mois (TZANAKAKIS, 1967).

Des recherches furent effectuées sur la possibilité de remplacer le milieu nutritif naturel des larves de *Dacus* par un milieu artificiel (MOORE, 1959 ; HAGEN et coll., 1963 ; LOPEZ, 1964 ; TZANAKAKIS et coll., 1966 ; TZANAKAKIS et ECONOMOPOULOS, 1967). Dès la seconde moitié de 1965, au Centre de Recherches nucléaires « Demo-

(¹) Adresse actuelle : Institut Phytopathologique Benaki, Kifissia-Athènes, Grèce.

critos », deux milieux nutritifs pour les larves de *Dacus oleae* étaient mis au point. D'un rendement supérieur à 40 p. 100 (pupes en pourcentage des œufs), ils ont assuré la continuité de l'élevage jusqu'à présent.

Pour conserver le milieu nutritif artificiel en bon état, MOORE (1959), HAGEN et coll. (1963) et TZANAKAKIS et coll. (1966) utilisèrent différentes substances bactéricides et bactériostatiques tout en abaissant le pH à 4,0. HAGEN et coll. (1963) pensent que cette acidité ainsi que les différentes substances ayant une action nocive sur les bactéries, pourraient du même coup éliminer les symbiotes des larves de *Dacus* élevées dans un tel milieu. D'après HELLMUTH (1956) les bactéries symbiotiques procure-raient aux larves des Trypétides des enzymes protéolytiques, nécessaires pour l'exploita-tion des acides aminés constituant les protéines ; MOORE (1959), HAGEN *et al.* (1963), LOPEZ (1964) et TZANAKAKIS *et al.* (1966) ajoutèrent dans le milieu nutritif artificiel pour les larves de *Dacus* des protéines hydrolysées. YAMVRIAS (communi-cation personnelle), d'ailleurs, en examinant des *Dacus* adultes peu après leur sortie, constata que la crypte œsophagienne à symbiotes des individus issus de l'élevage artificiel de « Democritos » (14^e génération) non seulement était exempte de bactéries mais avait aussi perdu la forme et les dimensions qu'on lui connaît chez les *Dacus* adultes « sauvages ».

Suivant l'hypothèse de HAGEN (1966) d'après laquelle certaines substances nutritives des olives seraient inutilisables par les larves de *Dacus oleae* dépourvues de bactéries symbiotiques, le développement de ces larves dans les olives devrait être impossible. L'examen de cette éventualité est d'une importance certaine lorsque des lâchers d'insectes élevés en masse au laboratoire sont envisagés, soit pour des études écologiques, soit pour la lutte par la méthode des lâchers d'insectes stériles. Un autre point obscur serait l'incertitude sur la chance de survivre de ces adultes lorsqu'après les lâchers ils viendraient en contact avec des sources de bactéries telles que les différentes parties de l'olivier et les individus de la population naturelle de *Dacus* : une contamination éventuelle des *Dacus* adultes du laboratoire par des bacté-ries pourrait rendre leur descendance viable dans les olives mais pourrait aussi pro-voquer leur mort.

L'examen de ces éventualités constitue le but du présent travail.

MÉTHODE ET MATÉRIEL

Les *Dacus* utilisés au cours de cette expérience appartenaient à l'une des deux souches sui-vantes :

1^o insectes dont le développement larvaire s'était effectué au laboratoire dans des olives de la variété *Mégaritiki* ; leurs parents provenaient de pupes collectées dans des olives cueillies dans une oliveraie. Ces insectes, dans le texte et les tableaux, sont désignés comme insectes « sauvages » ;

2^o insectes élevés au laboratoire sur substrat nutritif artificiel pour larves et issus de l'éle-vage du Centre de Recherches nucléaires « Democritos » maintenu pendant plus de 35 généra-tions. Ils sont mentionnés dans le texte et les tableaux comme « insectes de l'élevage artificiel ».

Chaque lot expérimental était constitué par 30 couples de *Dacus* adultes du même âge placés dans une cage de 30 cm × 30 cm × 30 cm. Les insectes recevaient la nourriture standard pour les adultes des Trypétides : levure hydrolysée-sucre-eau (1 : 4 : 5). Des olives étaient maintenues dans les cages jusqu'à ce qu'elles aient reçu 3 ou 4 piqûres (œufs pondus) ; au bout de 18 jours on comptait le nombre d'insectes ayant atteint le 3^e stade larvaire ou transformés en pupes ; le critère retenu pour juger de la capacité des larves à se développer dans les olives était le pourcentage de L₃ et de pupes par rapport au nombre de piqûres.

Pour l'essai sur l'influence du contact des insectes de l'élevage artificiel avec différentes parties de l'olivier, 4 dispositifs expérimentaux ont été utilisés ; des tiges présentant des tumeurs et ayant séjourné pendant 24 heures dans une atmosphère saturée de vapeur d'eau ont été placées dans la première cage où elles ont été maintenues jusqu'à la fin de l'expérience, elles étaient humectées tous les matins ; dans la seconde cage les tumeurs étaient présentées aux insectes sans être humectées ; des feuilles d'olivier fraîchement cueillies étaient déposées dans la troisième cage, elles étaient humectées tous les matins ; la quatrième cage (témoin) ne contenait que les olives devant recevoir les œufs.

Les insectes destinés à l'étude de l'influence du contact des insectes de l'élevage artificiel avec les insectes sauvages ont été répartis dans quatre cages.

Au bout de 27 jours les spermathèques des femelles des huit cages ont été examinées pour le contrôle des copulations et des inséminations.

Huit cages complémentaires correspondant aux huit cages à examiner ont servi au contrôle de la mortalité effectué la 5^e semaine de l'expérience.

La température et l'humidité relative ont été maintenues constamment à $25^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$ et 58-65 p. 100 respectivement.

RÉSULTATS

Dans les conditions expérimentales de ce travail et d'après les données obtenues on peut constater que :

1^o le développement larvaire dans les olives de la descendance des *Dacus* de l'élevage artificiel est en grande partie inhibé (tabl. 1) ;

TABLEAU I

*Développement larvaire de Dacus oleae dans des olives ;
parents issus d'un élevage sur substrat artificiel et d'un élevage sur olives*

Age des femelles en jours	Pupes et L ₃ en pourcentage des piqûres effectuées des :		
	Parents issus de l'élevage artificiel		Parents « sauvages »
	Témoins	Contact avec des tumeurs	Témoins
12	3,7	5,2	68,3
15	10,6	3,0	70,8
16	7,0	5,0	62,4
19	15,6	12,5	58,3
20	8,1	7,1	67,4
23	4,7	7,2	62,6
24	—	8,9	67,3
25	7,1	4,8	53,4
27	6,9	0	60,3
Nombre total des piqûres			
	1 337	1 952	1 671

2^o Les tentatives de contamination des adultes de l'élevage artificiel par leur contact avec des tumeurs, contenant des bactéries présumées symbiotiques, ont échoué : ce contact n'a pas pu assurer la survie des larves dans les olives (tabl. 1).

3° le taux des accouplements entre adultes de l'élevage artificiel et adultes « sauvages » ne paraît pas être diminué par le fait que mâles et femelles appartiennent à un stock d'insectes différent : le pourcentage des spermathèques inséminées est du même ordre que chez les adultes appartenant au même stock;

4° les femelles de l'élevage artificiel accouplées avec des mâles « sauvages » eurent une descendance en grande partie non viable (tabl. 2);

TABLEAU 2

*Développement larvaire de Dacus oleae dans les olives;
parents issus d'un élevage sur substrat nutritif artificiel,
d'un élevage sur olives et de l'accouplement entre insectes de ces deux souches*

Age des adultes en jours	Pupes et L ₃ en pourcentage des piqûres effectuées par des :			
	♂ ♂ S * × ♀ ♀ S *	♂ ♂ S * × ♀ ♀ E.a. **	♂ ♂ E.a. ** × ♀ ♀ S *	♂ ♂ E. a. ** × ♀ ♀ E. a. **
12	59,9	6,4	66,1	3,0
15	71,0	1,8	74,1	2,7
18	68,7	15,6	76,5	17,0
20	63,5	12,3	67,4	7,3
25	58,7	17,6	54,3	9,6
	Nombre total des piqûres			
	746	843	578	914

* Adultes « sauvages ».

** Adultes issus de l'élevage sur substrat nutritif pour larves artificiel.

5° les femelles « sauvages » eurent une descendance viable, même lorsqu'elles s'accouplèrent avec des mâles de l'élevage artificiel (tabl. 2);

6° la longévité des insectes de l'élevage artificiel ne paraît pas être affectée par le contact des insectes avec les feuilles et les tumeurs de l'olivier (tabl. 3);

TABLEAU 3

*Mortalité (en pourcentage) des Dacus adultes
issus de l'élevage sur substrat nutritif artificiel
après un contact avec différentes parties de l'olivier*

Age des adultes en semaines	Témoins		Contact des adultes avec des :					
			tumeurs humectées		tumeurs sèches		feuilles	
	♂ ♂	♂ ♂	♀ ♀	♂ ♂	♀ ♀	♂ ♂	♀ ♀	♂ ♂
1	0	8	12	8	8	0	12	8
2	12	4	8	0	8	0	12	0
3	20	0	4	0	4	0	0	0
4	0	4	4	4	8	8	16	8
Total	32	16	28	12	28	8	40	16

7° la mortalité est plus élevée chez les insectes de l'élevage artificiel que chez les insectes « sauvages » ; le contact des insectes « sauvages » avec ceux de l'élevage artificiel ne paraît pas influencer la longévité de ces derniers (tabl. 4).

TABLEAU 4

*Mortalité (en pourcentage) des Dacus adultes « sauvages »,
de ceux issus de l'élevage sur substrat nutritif
et des couples de différentes souches*

Age des adultes en semaines	♂ ♂ S* × ♀ ♀ S*		♂ ♂ S* × ♀ ♀ E. a. **		♂ ♂ E. a. ** × ♀ ♀ E. a. **		♂ ♂ E. a. ** × ♀ ♀ S*	
	♀ ♀	♂ ♂	♀ ♀	♂ ♂	♀ ♀	♂ ♂	♀ ♀	♂ ♂
1	3,3	3,3	6,7	6,7	6,7	6,7	6,7	3,3
2	3,3	3,3	13,4	13,4	6,7	0	10,0	0
3	6,7	13,4	10,0	3,3	13,4	3,3	6,7	6,7
4	3,3	3,3	16,7	13,4	20,0	16,7	16,7	3,3
5	13,4	3,3	6,7	6,7	10,0	3,3	6,7	6,7
Total	30,0	26,6	53,5	43,5	56,8	30,0	46,8	20,0

* Adultes « sauvages ».

** Adultes issus de l'élevage sur substrat nutritif pour larves artificiel.

DISCUSSION ET CONCLUSIONS

Les résultats obtenus dans les conditions expérimentales du présent travail, permettent de penser que les larves de *Dacus oleae* ne peuvent pas se développer dans des olives lorsque leurs parents sont issus d'un élevage au laboratoire où les larves de plusieurs générations ont été nourries sur milieu nutritif artificiel. L'hypothèse de HAGEN (1966) et les données expérimentales de YAMVRIAS pourraient expliquer l'impuissance de ces larves à survivre dans les olives. Un phénomène similaire fut signalé par HAGEN et coll. (1963) et par FYTIZAS et TZANAKAKIS (1966 a, 1966 b), dans le cas où des adultes « sauvages » avaient reçu un antibiotique, la streptomycine, incorporé à leur nourriture ; d'après HAGEN, l'élimination des bactéries symbiotiques par l'antibiotique serait la cause de l'inhibition du développement larvaire de la descendance dans les olives.

Pourtant, un pourcentage faible des larves issues des femelles de l'élevage artificiel, put atteindre le stade de pupa. Ce résultat serait peut-être lié au fait que les olives utilisées avaient séjourné dans le réfrigérateur à 4°C presque un mois avant d'être employées ; FYTIZAS et TZANAKAKIS (1966 a, 1966 b) avaient déjà signalé que les olives, conservées pendant deux mois à 4°C, permettaient à la descendance des *Dacus* adultes, nourris à la streptomycine, de se développer normalement ; la survie des larves, présumées exemptes de bactéries, serait peut-être due à une amélio-

ration des conditions nutritives : SAWAS-DIMOPOULOU et FYTIZAS (1967) démontraient que dans les olives, après deux mois de conservation à 4°C, le taux des acides aminés libres avait augmenté. Une seconde hypothèse, expliquant le faible pourcentage de larves survivantes, serait la contamination éventuelle de leurs parents par des bactéries symbiotiques ; mais ce faible pourcentage avait la même valeur dans tous les cas (insectes-témoins et insectes venus en contact avec les sources probables de bactéries présumées symbiotiques) ; si une contamination a lieu, ce n'est pas le contact avec les tumeurs et les insectes « sauvages » qui en est la cause. Tout de même, les tumeurs peuvent contaminer les *Dacus* adultes : lors d'une expérience précédente (FYTIZAS et TZANAKAKIS 1966 c) nous avons pu constater qu'une partie de la descendance des *Dacus* adultes, ayant reçu la streptomycine et ensuite étant venue en contact avec des tumeurs, se développait normalement dans des olives fraîchement cueillies.

Une deuxième conséquence du présent travail serait la constatation que le contact des insectes de l'élevage artificiel avec les insectes « sauvages » et différentes parties de l'olivier n'a pas entraîné d'épizooties.

Dans une oliveraie, bien sûr, les difficultés de survie, que pourraient rencontrer les insectes de l'élevage artificiel après leur lâcher, seraient nombreuses ; la recherche de la nourriture et autres besoins vitaux mettraient les insectes en contact avec des sources multiples de bactéries ; la réaction même des insectes élevés au laboratoire envers les variations climatiques dans une oliveraie serait peut-être différente de celle de la population naturelle. L'expérience sur le comportement des *Dacus* adultes élevés au laboratoire et lâchés dans une oliveraie serait d'une grande importance.

Reçu pour publication en janvier 1971.

SUMMARY

DEVELOPMENT IN OLIVES OF *DACUS OLEAE* LARVAE COMING FROM PARENTS REARED AT LARVAL STAGE, ON ARTIFICIAL DIET SUBSTRAT

During this experience the possibility of survival, in olives and in natural like conditions, of *Dacus oleae* population coming from a rearing on diet medium for larvae have been investigated.

Used insects were reared in the entomological laboratory of the « Democritos » nuclear researches Centre. During the larval stage these insects were developed in an artificial diet medium for 35 generations.

On the whole, the development of their lineage in olives were impossible for larva. Contact of adults of this insect stock with « wild » adults or parts of the olive-tree (olives, leaves and stems with tumours) not improved chances for survival larvae. This contact was without effects on adult longevities of the artificial rearing.

They are some likeness with results obtained during further experiences on the development of « wild » *Dacus* lineage having received an antibiotique : streptomycin, incorporated in their food.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- FYTIZAS E., TZANAKAKIS M. E., 1966 a. Some effects of streptomycin when added to the adult food of *Dacus oleae* and their progeny. *Ann. Entomol. Soc. Amer.*, **59** (2), 269-273.
 FYTIZAS E., TZANAKAKIS M. E., 1966 b. Développement des larves de *Dacus oleae* dans les olives, lorsque leurs parents ont reçu la streptomycine, incorporée à leur nourriture. *Ann. Épiphyties*, **17** (1), 53-59.

- FYTIZAS E., TZANAKAKIS M. E., 1966 c. Sur la possibilité d'une lutte contre *Dacus oleae* par l'utilisation des antibiotiques. *Mededelingen Rijksfaculteit Landbouwwetenschappen Gent.*, **31** (3), 782-789.
- HAGEN K. S., SANTAS L., TSECOURAS A., 1963. A technique of culturing the olive fly *Dacus oleae* GMEL. on synthetic media under xenic conditions. Radiation and Radioisotopes Applied to Insects of Agricultural Importance. *Proc. Symp. Athens*, 22-26 April 1963. I. A. E. A., Vienna, 333-356.
- HAGEN K. S., 1966. Dependence of the olive fly, *Dacus oleae*, larvae on symbiosis with *Pseudomonas savastanoi* for the utilization of olive. *Nature* (London), **209** (5021), 423-424.
- HELLMUTH H., 1956. Untersuchungen zur Bakterien-symbiose der Trypetiden (Diptera). *Z. Morphol. Okol. Tiere*, **44**, 483-517.
- LOPEZ D. F., 1964. Development of olive fruit fly mass production methods. Rept. to Govt. of Greece. I. A. E. A. *TA RPT*, **170**, 5 pp.
- MOORE I., 1959. A method for artificially culturing the olive fly (*Dacus oleae* GMEL.) under aseptic conditions. *Ktavim. J. Agr. Res. Sta. Rehovot*, **9**, 295-296.
- SACANTANIS K. B., 1953. Méthode de l'élevage au laboratoire de la mouche des olives (*Dacus oleae* GMEL.). *Rev. Pathol. vég., Ent. Agr. Fr.*, **32**, 247-257.
- SAWAS-DIMOPOULOU C., FYTIZAS E., 1967. Accumulation des acides aminés libres dans le mésocarpe de l'olive après conservation à basse température. *Can. J. Biochem.*, **45**, 1965-1971.
- TZANAKAKIS M. E., ECONOMOPOULOS A. P., TSITSIPIS J. S., 1966. Improved artificial food media for larvae of *Dacus oleae* (GMELIN) (Diptera : Tephritidae). *Z. ang. Entomologie*, **58** (4), 373-383.
- TZANAKAKIS M. E., ECONOMOPOULOS A. P., 1967. Two efficient larval diets for continuous rearing of the olive fruit fly, *Dacus oleae* (GMELIN) (Diptera : Tephritidae). *J. econ. Entomol.*, **60** (3), 660-663.
- TZANAKAKIS M. E., 1967. Control of the olive fruit fly, *Dacus oleae* (GMELIN), with radiation or chemical sterilisation procedures. Technical Report U. S. D. A., Grant FG-GR-102. Project E11-ENT-1 (6 February 1967) 80 pp.

ASPECTS DE LA PHYSIOLOGIE DE LA REPRODUCTION ET DU DÉVELOPPEMENT CHEZ *OS CINELLA PUSILLA* MEIG. (DIPT. CHLOROPIDAE)

J. BORDON (1)

Laboratoire d'Entomologie, Faculté des Sciences,
91 - Orsay

RÉSUMÉ

L'appareil génital femelle d'*Oscinella pusilla* MEIG. comprend deux ovaires constitués chacun, en moyenne, de six ovarioles polytrophiques. Dorsalement à l'oviducte, différencié en bourse copulatrice, débouchent deux paires de glandes accessoires. Les antérieures présentent un long canal enroulé en peloton serré; elles sont les homologues des spermathèques de la *Drosophile*. Chez le mâle, les testicules sont constitués probablement d'un seul tube séminifère et se raccordent aux spermiductes sans différenciation d'une vésicule séminale.

Dans le déroulement du comportement de ponte entrent en jeu la couleur, l'élongation, la configuration stéréotactique et l'hygroscopicité du substrat.

La vitellogenèse s'accomplit par cycles successifs. Le 1^{er} cycle est effectué dans les trois premiers jours de la vie imaginale, grâce aux réserves du corps adipeux larvaire. La nutrition de l'adulte conditionne la réalisation des cycles suivants (jusqu'à 4 cycles). Les réserves protéiques du corps adipeux sont mises en place chez la larve de 3^e stade d'abord dans la moitié postérieure puis dans la moitié antérieure de l'animal. Chez la jeune puppe, les cellules du corps adipeux, bourrées de globules protéiques, présentent des noyaux pycnotiques et deviennent indépendantes les unes des autres. La fécondité réduite observée dans nos élevages (25 à 30 œufs par femelle au maximum) nous conduit à envisager plusieurs hypothèses, quant au rôle de la nutrition imaginale et de la nutrition larvaire sur les plans biochimique, sensoriel et symbiotique.

INTRODUCTION

Oscinella pusilla MEIG., *O. frit* L. et plusieurs autres espèces d'Oscinies se révèlent être des ravageurs importants s'attaquant aux céréales, Blé, Avoine et Orge notamment. De nombreux travaux ont été consacrés à *O. pusilla* et *O. frit*, surtout dans un contexte agronomique (écologie, cycle biologique, mise en évidence de variétés de céréales résistantes, modalités d'élevage, etc.). Des travaux sont actuellement en cours pour tenter de séparer les espèces *pusilla* et *frit* par des critères autres que morphométriques, ceux-ci se révélant insuffisants pour certaines populations.

(1) Adresse actuelle : École normale supérieure, 92 - Saint-Cloud

Toutes ces manipulations nécessitent la réalisation d'élevages au laboratoire. Or, l'élevage des *Oscinies* ne se fait pas sans difficultés du fait d'une fécondité assez limitée. Aussi l'étude anatomique et physiologique de l'appareil génital de l'*Oscinie* a-t-elle été entreprise.

Dans les conditions du Laboratoire, *Oscinella pusilla* s'est révélée la plus maniable et a été choisie comme matériel principal.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

A. — Élevage

Conditions.

L'élevage a été conduit en chambre climatisée, à la température de 25°, sous bonnette de rhodoid et en éclairage continu.

Les adultes sont alimentés par une solution de lait sucré définie (13 g de saccharose + 15 g de lait de régime Nido en poudre pour 200 cm³ d'eau distillée).

Cette solution a été testée comme donnant le taux de prolifération maximal comparative-ment à d'autres solutions telles que eau + saccharose, caséine, miel, etc.. (LE BERRE, CHEVIN, MOREAU, 1961). Nous reviendrons ultérieurement sur la nutrition des adultes et son efficacité.

Cycle.

Dans ces conditions, le développement, de la ponte à l'émergence, dure environ 24 jours.

B. — Techniques histologiques

J'ai utilisé deux sortes de méthodes : des montages d'appareils génitaux adultes entiers et des coupes de larves, pupes, appareils génitaux d'imago.

1. *Montages in toto.*

La mouche tuée à l'éther acétique est rincée à l'alcool à 90°, puis collée sur le dos dans une cuvette paraffinée, au moyen d'une aiguille chauffée. La dissection est faite dans le Ringer normal ou Ephrussi, à l'aide de pinces fines et d'aiguilles montées. Les appareils complets sont étalés dans le Ringer sur une lame porte-objet nettoyée à l'alcool.

Le Ringer est éliminé presque totalement avec une languette de papier-filtre. Avant que l'organe ne se soit desséché, on dépose dessus une goutte de fixateur de Dubosq-Brazil.

Une fixation de 5 à 10 mn suffit pour les petits organes.

Le fixateur colle en principe la pièce à la lame par coagulation superficielle des protéines.

Les organes montés sur lame sont rincés en alcool à 50° et peuvent être conservés ainsi. La coloration la meilleure pour ce genre de montage est le Feulgen-vert lumière, qui détache nettement les noyaux rouges sur un cytoplasme vert pâle. Le vitellus est d'un jaune franc, sauf dans les ovocytes âgés (après fixation au Dubosq-Brazil, une hydrolyse de 2 mn dans HCl normal à 60°C suffit).

2. *Coupes.*

Les gonades d'adultes ont été fixées au Helly.

L'inclusion double gélose-paraffine, qui permet une bonne orientation des pièces, a été utilisée.

Les coupes effectuées à 5 μ ont subi trois types de colorations :

- glychémalun-érythrosine-Orangé G,
- glychémalun-éosine,
- feulgen-vert lumière.

L'observation a été faite au microscope optique normal et en contraste de phase.

RÉSULTATS

A. — Description de l'appareil génital adulte

I. Appareil mâle (fig. 1).

L'appareil génital des mâles d'Oscinies est constitué des mêmes éléments que celui de la plupart des Diptères Cyclorhaphes, à savoir : une paire de testicules débouchant par des canaux déférents dans un canal éjaculateur unique, une paire de glandes accessoires allongées débouchant au niveau de la confluence des canaux déférents dans le canal commun. Après différenciation en un bulbe éjaculateur, le canal éjaculateur se continue et atteint les pièces copulatrices ou genitalia.

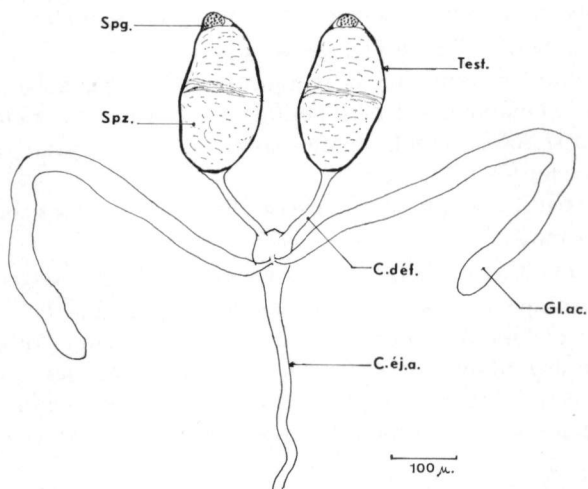


FIG. 1. — Appareil génital mâle d'Oscinella pusilla MEIG.

Spg. : spermatogonies
 Spz. : spermatozoïdes
 Test. : testicule
 C. déf. : canal déférent
 C. éja. : canal éjaculateur
 Gl. ac. : glande accessoire

a) Les testicules. (Pl. I fig. 1-2).

Chaque testicule est constitué par une masse ovoïde de $260\ \mu$ de longueur pour un diamètre maximal de $125\ \mu$. Le testicule est recouvert d'une tunique épithéliale brune épaisse de 3 à $4\ \mu$. En coupe, on peut en outre observer une tunique interne, très fine avec des noyaux à peine visibles, plaquée contre la masse germinale. A l'apex du testicule, on aperçoit un massif de cellules, séparé du reste de l'organe par une légère constriction de la tunique.

Sur coupe histologique, on constate une différenciation antéro-postérieure. Le massif apical est constitué de spermatogonies disposées sans ordre apparent. Puis, les gonies s'ordonnent en travées transversales ou cystes. La structure de ces cystes

sera précisée lors de l'étude du développement du testicule (LAUGÉ et BORDON, 1971 a)

Après une phase de croissance cellulaire assez importante (de 5-7 μ à 15-20 μ), les gonies se transforment en spermatocytes primaires à cytoplasme abondant. A ce niveau les cystes se réarrangent et, de lamellaires, deviennent globuleux. Puis à l'intérieur de chaque cyste se produit la méiose qui donne, à partir des spermatocytes primaires, des spermatocytes secondaires difficilement décelables et des spermatides reconnaissables à leur noyau condensé et à une masse claire fusiforme située sous le noyau (il s'agit du Nebenkern, représentant la masse condensée des mitochondries). Ensuite les spermatides s'allongent considérablement et s'enroulent dans des plans transversaux successifs. Les spermatides issues d'un même cyste restent unies en un seul faisceau, mais il n'a pas été possible de distinguer de « cellule nourricière » qui, chez la *Drosophile* par exemple, reçoit les noyaux des spermatides du cyste. Cependant le faisceau garde sa cohésion jusqu'à l'apparition des spermatozoïdes. Ceux-ci s'entassent alors d'une manière désordonnée dans la base du testicule. Il n'y a pas, en effet, de différenciation du canal déférent en vésicule séminale.

Le testicule apparaît donc divisé en deux zones :

— la zone antérieure où se produit la spermatogenèse ; cette zone présente un vide central consécutif à l'enroulement périphérique des spermatides. Cependant, on peut y reconnaître des traînées cytoplasmiques contenant des noyaux très clairs, restes probables des enveloppes des cystes.

— La zone postérieure, remplie d'une masse dense de spermatozoïdes, qui joue le rôle de vésicule séminale.

On peut considérer le testicule de l'oscinie comme étant composé d'un seul tube séminifère. Ceci explique la présence d'une double tunique. En effet, dans des groupes d'insectes moins évolués (Orthoptères, par exemple), chaque tube séminifère est entouré d'une fine membrane épithéliale ; en outre, l'ensemble des tubes d'un testicule est réuni à l'intérieur d'une enveloppe épithéliale. Ces deux membranes sont respectivement les équivalents de la tunique interne et la tunique externe du testicule des diptères.

b) *Tractus génital.*

A la base de chaque testicule débouche un canal déférent. C'est un tube étroit composé de 3 couches cellulaires : une couche interne épaisse, à gros noyaux sphériques, une couche moyenne fine à noyaux épars et très petits et, enfin, une couche externe de 5 μ d'épaisseur, contenant des noyaux allongés, et légèrement pigmentée de brun clair.

Les canaux déférents débouchent dans la région antérieure, renflée, du canal éjaculateur. Celui-ci est composé de 2 couches épithéliales, une interne épaisse, à gros noyaux sphériques et une externe très fine, à noyaux aplatis. Le canal effectue une circonvolution autour de l'intestin postérieur et s'élargit en un bulbe éjaculateur à paroi musculeuse. Par ailleurs, sur la face ventrale du bulbe, on trouve un apodème sclérifié donnant appui à deux faisceaux de muscles. Le bulbe se réduit ensuite en un canal éjaculateur postérieur qui débouche à l'extrémité du pénis.

Une paire de glandes accessoires, tubules de 0,8 mm de longueur, constitués d'un épithélium palissadique à gros noyaux basaux et d'une couche épithé-

liale externe mince, débouche ventralement dans la zone antérieure du canal éjaculateur.

c) *Genitalia* (fig. 2 c, d).

L'interprétation des segments génitaux des mâles des diptères supérieurs présente de grandes difficultés, aussi n'en donnerai-je ici qu'une description sommaire.

Les genitalia sont condensés au niveau du segment génital (9^e segment). Le 9^e tergite porte deux paires d'appendices que nous désignerons par forceps internes

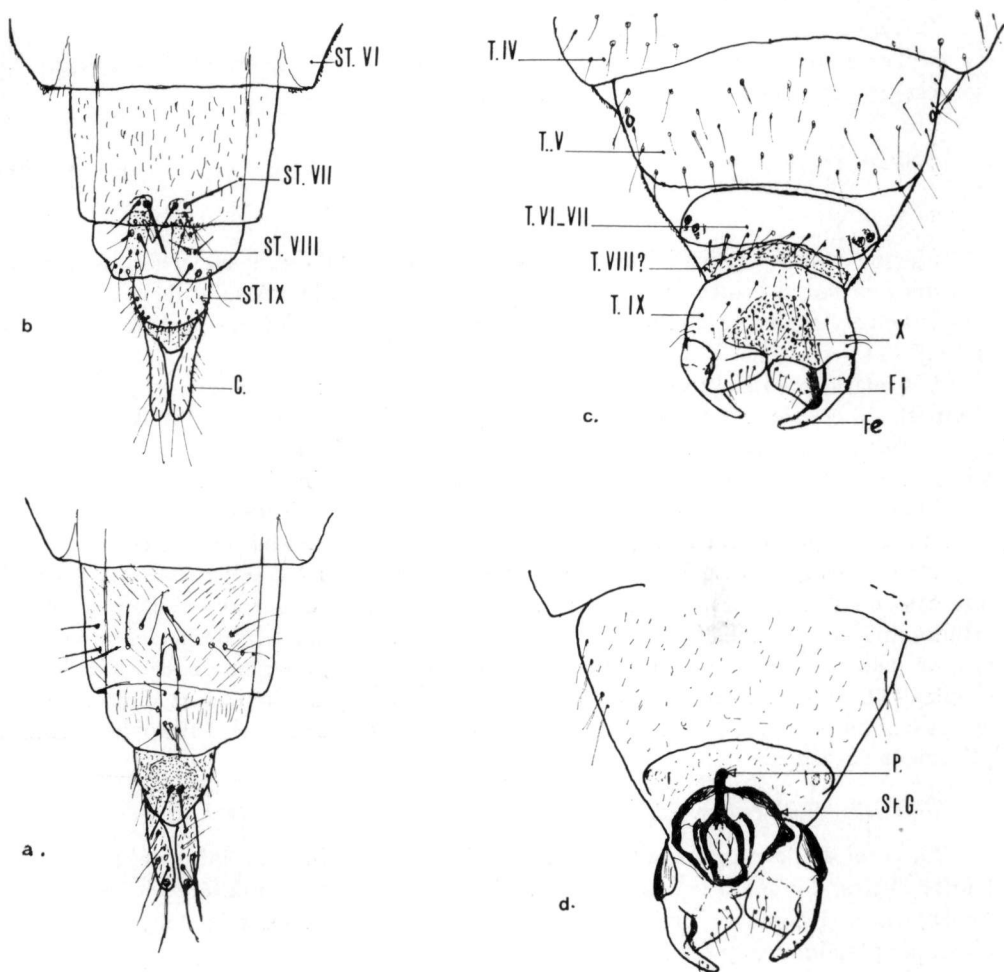


FIG. 2. — *Genitalia* d'*Oscinella pusilla* MEIG.

- a) ovipositeur, face dorsale
- b) ovipositeur, face ventrale
- c) extrémité abdominale mâle. Face dorsale
- d) extrémité abdominale mâle. Face ventrale
- ST. : Sternite ; St G. : sternite génital
- T. : Tergite
- C. : « Cerque »
- Fi : Forceps interne
- Fe : Forceps externe
- P : Pénis

et forceps externes. Le tergite 9 montre en outre une aire finement décorée de soies courtes dans laquelle s'ouvre l'anūs. Il s'agit sans doute d'un vestige d'un dixième tergite.

La face ventrale montre une arche brune sclérifiée. Il s'agit du 9^e sternite, dit sternite génital. Au centre de cette arche s'articule l'édéage constitué d'une base élargie et terminée en avant par le pénis en baguette sclérifiée. Au repos, le segment 9 se trouve replié ventralement. Seuls apparaissent les forceps et la distinction des sexes est alors moins aisée.

Remarque : Le tergite 8 est mal individualisé ; en effet il est situé dans la zone d'articulation qui permet au segment 9 de se rabattre ventralement et la sclérification est peu apparente dans cette zone.

2. Appareil femelle.

a) Ovaires.

Chaque ovaire est constitué d'un nombre variable d'ovarioles. Les animaux disséqués en ont présentés 4 à 9 avec une moyenne de 6. De plus, les deux ovaires d'une même femelle ne contiennent pas obligatoirement le même nombre d'ovarioles.

Les ovarioles sont du type méroïstique polytrophique : chaque ovocyte est surmonté de 15 cellules nourricières ou trophocytes issues comme lui de la même ovogonie originelle. Par ailleurs, ces seize cellules sont entourées d'un épithélium folliculaire, l'ensemble constituant un follicule ou chambre germinative ⁽¹⁾.

Chez une femelle à l'émergence, trois follicules sont constitués dans chaque ovariole, un 4^e est en préparation. Au-dessus, une masse de cellules dans laquelle on peut reconnaître des gonies isolées (à l'apex) ou groupées et des cellules mésodermiques intercalées, entourant les précédentes. L'ovariole est terminé par un empilement de cellules aplaties qui constituent le filament terminal. Reliant deux follicules successifs, on peut distinguer un empilement de cellules aplaties, de même nature que les cellules folliculaires. Chaque ovariole est entouré d'un épithélium assez mince. Un 2^e épithélium plus épais, contenant peut-être des fibres musculaires, enveloppe complètement l'ovaire.

b) Voies génitales (fig. 3).

La paroi de l'ovaire se continue en un oviducte qui, réuni à celui provenant de l'autre ovaire, donne un conduit unique. L'oviducte commun se différencie ventralement en un réceptacle séminal et une bourse copulatrice. Dorsalement, 2 paires d'organes glandulaires y débouchent.

La paroi externe de l'oviducte est abondamment pourvue de fibres musculaires circulaires qui jouent sans doute un rôle péristaltique et provoquent la descente des ovocytes mûrs.

La membrane épithéliale qui entoure les ovarioles est en continuité avec la couche interne des oviductes latéraux. Cette couche présente une épaisseur variable

⁽¹⁾ Le développement post-embryonnaire de l'ovaire fait l'objet d'une autre publication (LAUGÉ, BORDON, 1971 b).

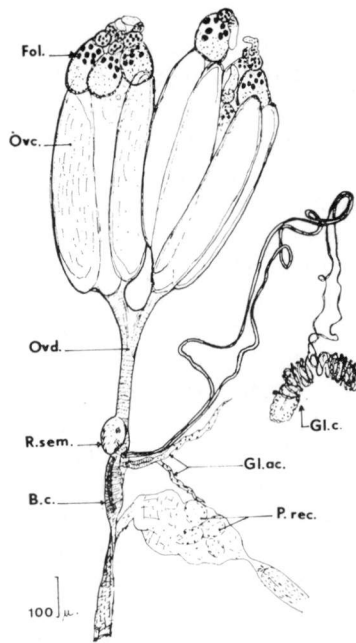


FIG. 3. — Appareil génital femelle d'*Oscinella pusilla* MEIG.

- Fol. : follicule
 Ovc. : ovocyte
 Ovd. : oviducte
 R. sem. : réceptacle séminal
 B. c. : bourse copulatrice
 Gl. c. : glande contournée
 Gl. ac. : glande accessoire
 P. rec. : papilles rectales

selon le niveau et, de plus, elle présente une intima cuticulaire au niveau de l'oviducte commun.

Le réceptacle séminal est une poche émanant de l'oviducte. On y retrouve les deux couches épithélio-musculaires et l'intima cuticulaire, celle-ci présentant des crêtes minces qui confèrent à l'ensemble une certaine rigidité. L'examen des coupes et montages d'appareils femelles, prélevés à des âges différents, montre bien la présence d'une masse compacte de spermatozoïdes, et la dénomination de réceptacle séminal est parfaitement justifiée. L'embouchure de cette poche sur l'oviducte est maintenue fermée par une sorte de chicane épithéliomusculaire provenant de la membrane interne, compliquée de différenciations cuticulaires, une languette à l'avant, une plaque spinuleuse à l'arrière.

De plus, une proéminence de la paroi dorsale contenant les débouchés des « glandes contournées », pénètre comme un bouchon dans l'orifice du réceptacle. Étant donnée la conformation de cet organe, il est probable que c'est l'action mécanique du passage de l'ovocyte qui provoque l'ouverture et la compression du réceptacle, permettant ainsi la sortie des spermatozoïdes et la fécondation.

L'oviducte présente ensuite une différenciation que l'on peut interpréter comme une bourse copulatrice par référence aux données classiques (MILLER, 1950). Cette

zone consiste en un épaississement des deux parois de l'oviducte, principalement des parois ventrale interne ($14\ \mu$) et dorsale externe. En vue ventrale, la bourse copulatrice se présente comme une dilatation ovalaire de l'oviducte. On peut penser, sans toutefois pouvoir l'affirmer, que son rôle est de recevoir l'extrémité de l'édéage et de servir d'entrepôt temporaire aux spermatozoïdes.

Dorsalement, débouchent deux paires d'organes accessoires :

— Au niveau du réceptacle, partent deux conduits de $14\ \mu$ de diamètre, accolés sur une longueur de 1 à 1,5 mm. Puis le diamètre diminue et les conduits s'enroulent en un peloton serré au travers duquel on discerne deux massifs cellulaires. En coupe, la paroi du conduit apparaît constituée de 2 couches cellulaires, la couche interne sécrétant une intima cuticulaire épaisse ornée de loin en loin de crêtes transversales. L'insertion dans le renflement de la paroi dorsale de l'oviducte se fait par un épaississement cuticulaire en sifflet de la base du conduit. Au niveau du tortillon, la couche cellulaire s'amincit et les noyaux s'espacent. Le conduit aboutit au centre du massif cellulaire. Ce dernier est constitué d'un tube à paroi très épaisse ($30\ \mu$), composé d'une couche de cellules très hautes à noyau basal. La lumière du tube est réduite et l'intima cuticulaire y semble ténue sinon absente. Les cellules de ce massif présentent des figures de sécrétion de type mérocrine : vésicules claires dans la partie distale, noyau basal, limite supérieure de la cellule indistincte dans certains cas. Mais seule une étude histochimique pourrait nous renseigner sur la nature de ces sécrétions.

En dépit de l'homologie de position et de constitution de ces glandes avec les spermathèques d'autres Diptères Cyclorrhaphes *Drosophila*, *Chlorops*, *Musca*, *Calliphora*...), il est préférable de les dénommer « glandes contournées », termes qui, sans préjuger de leur fonction réelle non établie pour le moment, décrivent mieux leur aspect et leur rôle apparent. Sur aucune des coupes observées, je n'ai trouvé de spermatozoïdes ni dans les conduits, ni dans les glandes terminales.

— Un peu plus postérieurement, débouche une paire de glandes dites accessoires. La partie basale est constituée d'une couche cellulaire sécrétant une intima cuticulaire ornée de nombreuses crêtes transversales. La glande se poursuit par un tube cellulaire à paroi épaisse dont la lumière est tapissée par une intima très réduite. La fonction glandulaire de cette zone ne fait pas de doute, mais il reste à montrer le rôle de la sécrétion.

c) *Ovipositeur* (fig. 2 a, b).

L'ovipositeur de l'Oscinie est constitué par le repli des segments 6, 7, 8 et 9 à l'intérieur du 5^e. Ces différents segments présentent des zones sclérifiées ornées de soies qui permettent de repérer les tergites et sternites.

Au niveau du segment 9, on trouve une paire d'appendices garnis de soies courtes et de quelques macrochètes. Ces appendices que l'on a coutume de désigner par « cerques » seraient les vestiges du 10^e segment qui n'est ici représenté que par la zone anale.

L'intérieur de l'ovipositeur est occupé en grande partie par les replis de l'oviducte postérieur et de la partie distale du rectum. De nombreux muscles longitudinaux qui participent à l'extension de l'organe en tapissent la paroi.

B. — Comportement de ponte et conséquences

1. Observations.

Dans nos propres élevages et dans d'autres élevages visités, la variation des lieux de ponte de *Oscinella pusilla* s'est révélée importante. Dans le meilleur des cas, les œufs sont déposés à la base des jeunes pousses, sur le coléoptile et la gaine des jeunes feuilles. Mais le plus souvent, et ce fut le cas de nos élevages, les œufs sont déposés sur le sable au pied des jeunes plantes.

Ce comportement a été observé par de nombreux auteurs. Par ailleurs, on remarque que, dans la nature, *O. pusilla* est inféodée aux graminées de la tribu des orges et, dans la mesure où elle a le choix, la mouche pond sur cette plante-hôte qui présente les meilleures conditions pour le développement de la larve.

2. Interprétations.

On peut d'ores et déjà dégager deux phases de ce comportement de ponte : d'une part le repérage de la plante-hôte et, d'autre part, le choix de l'emplacement de ponte sur ou au voisinage immédiat du substrat. C'est d'ailleurs une séquence d'événements que l'on retrouve chez beaucoup de Diptères supérieurs. Plusieurs auteurs ont essayé d'interpréter ce comportement en faisant intervenir divers facteurs physiques ou chimiques caractérisant la plante-hôte.

Pour le repérage à distance, SANDERS (1960) fait intervenir l'impression produite par la succession de lignes verticales que constituent les jeunes plants de céréales. Des leurres composés de languettes de papier étroites, de quelques centimètres de hauteur, sont particulièrement attractifs.

Mais ce facteur morphologique n'explique pas le repérage par *O. pusilla* de quelques plants d'orge au milieu d'un semis d'avoine (MOREAU, 1963). Cet auteur a pu mettre en évidence une attraction sélective des pièges à eau, bleus pour *Oscinella frit*, alors qu'*O. pusilla* se capture indifféremment dans les pièges jaunes et bleus. L'auteur met en rapport ce phénomène avec des différences de composition spectrale, notamment dans les bleus, de la lumière réfléchie par les plantes-hôtes. Ainsi, la vision jouerait un grand rôle dans le repérage à distance du substrat de ponte.

Quant au choix de l'emplacement de ponte, il semble que l'on soit en présence d'un comportement très complexe mettant en jeu plusieurs facteurs.

SANDERS (1960) décrit les phases successives de cette recherche : la mouche parcourt la pousse d'avoine (il s'agit d'*O. frit*) en se dirigeant préférentiellement vers la base. Pendant ces trajets, l'ovipositeur, est en partie dévaginé. La ponte est toujours précédée d'une exploration du substrat par l'extrémité de l'ovipositeur entièrement dévaginé. La ponte a lieu dans des fissures du végétal et sur le sol. Deux groupes principaux de stimuli peuvent être envisagés. Le premier, qui semble prépondérant, est l'hygro-tactisme. En effet, dans tous les cas, les œufs sont déposés à la base de la plante et souvent sur le sol (CUNLIFFE et HODGES 1946 ; SANDERS, 1960). LE BERRE (1959) a montré, expérimentalement, l'attractivité que présentait la base des leurres — en l'occurrence, des tubes capillaires — et même l'intérieur de ces tubes. Or il est incontestable que, près du sol gorgé d'eau et dans la lumière des tubes, règne une humidité assez importante.

Ainsi dans notre propre élevage, conduit dans des conditions d'humidité relative

assez faible, tous les œufs ont été pondus sur le sable des terrines. IBBOTSON (1959) va plus loin et fait intervenir des « exhalaisons de nature probablement biochimique, émises par les tissus en croissance » mais la démonstration n'est pas convaincante. Il est certainement plus plausible de faire intervenir, comme SANDERS, la succulence des tissus jeunes en croissance, de la base de la pousse. Ceci nous ramène à un hygro-tactisme simple qui n'est pas sans rappeler les observations de FÉRON sur *Ceratitis capitata* (FÉRON, 1958).

Par contre, le 2^e groupe de stimuli d'ordre mécanique est incontestablement actif. CUNLIFFE et HODGES (1946), SANDERS (1960) et JONES (1969) montrent l'attractivité que présentent, pour *Oscinella frit*, les fentes existant entre le coléoptile et la tige, ou entre la tige et la gaine des jeunes feuilles. La ponte entre les grains de sable, ou la ponte dans la fente du caryopse du blé (GAGNEPAIN, non publié), procèdent du même phénomène que l'on peut assimiler à un stéréotactisme.

Dans ce cas d'ailleurs, on peut relier les phénomènes à un équipement sensoriel précis. En effet, l'ovipositeur comporte à son extrémité deux cerques richement pourvus en grandes soies, dont quelques-unes au moins sont associées à des cellules de type sensoriel. Seule une étude électrophysiologique pourrait confirmer ces observations, mais la considération de la structure histologique et des mouvements d'exploration des cerques permet de prêter à ces soies une fonction mécanoréceptrice.

En résumé, le comportement de ponte débute par la recherche de la plante-hôte selon des critères visuels. Puis le site d'oviposition est choisi d'abord en fonction de l'hygroscopicité du substrat et, ensuite, en fonction de sa configuration stéréotactique. Les sites de perception de l'humidité ne sont pas connus chez l'Oscinie, quant à la mécanoréception, les cerques doivent jouer un grand rôle.

3. Conséquences de la présence ou de l'absence de la plante-hôte.

En l'absence de plante-hôte, la ponte est fortement retardée et très réduite (MOREAU, 1967). En présence de capillaires, la ponte, quoique retardée, peut atteindre une dizaine d'œufs par femelle (LE BERRE, 1959).

L'interprétation de cette réduction de fécondité est variable selon les auteurs. Ainsi, MOREAU a remarqué des régressions ovocytaires. Ces régressions seraient directement entraînées par la rétention des œufs et la vitellogenèse pourrait donc débiter sans plante-hôte. HILLYER (1965) prétend au contraire que l'absence de plante-hôte gêne la maturation des ovocytes. Compte tenu des observations de MOREAU, de LE BERRE et de mes propres observations, il semble que la plante-hôte agisse principalement sur l'émission des œufs. Le blocage de la maturation ovocytaire ne serait qu'une conséquence de la rétention.

L'absence de plante-hôte semble également avoir un effet sur le rapprochement des sexes. Sans blé, les adultes d'*Oscinella pusilla* ne s'accouplent que 6 jours après l'émergence et la ponte ne débute que 12 jours après, alors qu'en présence du substrat convenable, les accouplements ont lieu dès le 3^e et le 4^e jour. Il est difficile de savoir si la plante-hôte agit directement sur le comportement du mâle, ou si la maturation retardée de la femelle la rend inapte à accepter l'accouplement.

4. Conclusion.

Bien des aspects du comportement complexe de ponte ne sont pas élucidés. Les études qui en ont été faites ont eu surtout pour but la compréhension de la résistance

de certaines variétés de céréales aux attaques de l'Oscinie. Il conviendrait de faire une étude fondamentale de ce comportement, en y ajoutant des données de physiologie sensorielle.

C. — Fonctionnement ovarien et phénomènes annexes

1. Vitellogénèse (Pl. I, fig. 3, 4, 5, 6).

Comme chez la plupart des Diptères, les imagos d'Oscinies femelles possèdent, à l'émergence, des ovaires très petits. Avant de déposer ses œufs, la femelle doit y emmagasiner le vitellus, aliment du futur embryon. C'est pour cette raison que la ponte intervient 3 ou 4 jours après l'émergence, et qu'une alimentation gluco-protéique est nécessaire (LE BERRE *et al.*, 1961). Nous allons suivre le développement d'un ovocyte au cours de la maturation.

L'ovariole jeune a été décrit sommairement plus haut.

A l'émergence, les chambres germinatives basales sont à des stades de croissance différents selon les ovarioles. Leur taille varie de 90 à 115 μ de longueur sur 55 à 70 μ en largeur.

Un follicule prévitellogénétique est constitué par 16 cellules issues d'une même ovogonie, de tailles à peu près identiques, entourées par un épithélium prismatique formé de cellules régulières. L'ensemble est à peu près sphérique. Le noyau de l'ovocyte (cellule la plus basale) est une sphère claire de 8 μ de diamètre dans laquelle deux organites sont individualisés : une sphère petite et très éosinophile, le nucléole, et le caryosome, plus clair, constitué par le matériel chromatique condensé. A partir de ce stade, débute la phase de vitellogénèse. Le volume des trophocytes s'accroît considérablement ; leur noyau continue à multiplier son matériel chromatique par endomitose polyténique. Chez les Diptères supérieurs tels que *Drosophila*, *Musca*, *Calliphora*, la teneur en ADN atteint 1 024 fois la teneur du noyau haploïde et l'on est en droit de penser qu'il en est de même pour l'Oscinie. En même temps, le cytoplasme accroît son volume sous l'effet de synthèses probables. L'épithélium folliculaire s'épaissit, s'agrandit et bientôt les cellules proches de l'ovocyte dépassent en taille leurs compagnes. Cette croissance est due également à une série d'endomitoses qui, chez la *Drosophila*, portent le contenu en ADN à 16 fois la teneur haploïde. A ce stade, l'ovocyte commence à se distinguer des trophocytes. Le follicule est alors allongé en forme d'ellipsoïde (CUMMINGS *et al.*, 1969).

Ensuite, sous la poussée des trophocytes, les cellules folliculaires supérieures vont s'étirer, s'amincir pour constituer une enveloppe ténue ; seules les quelques 6 à 10 cellules de l'apex du follicule vont garder leur taille et, s'insinuant entre les trophocytes, gagner la partie supérieure de l'ovocyte. Elles constitueront les « cellules bordantes ».

Dans le même temps, l'épithélium folliculaire bordant l'ovocyte s'épaissit. Par un processus que les méthodes utilisées ne permettent pas de préciser, s'opère alors le dépôt du vitellus. Il est probable que les cellules nourricières et les cellules folliculaires jouent un rôle important. En effet, de nombreux travaux effectués sur *Drosophila melanogaster*, en particulier, ont montré l'existence de canaux reliant les cellules nourricières entre elles et avec l'ovocyte, et des transferts de matériel lipidique au moyen de ces canaux.

Par ailleurs, chez divers Lépidoptères et Diptères, la perméabilité du follicule à diverses molécules protéiques a été mise en évidence.

Dans les stades précoces de la vitellogenèse, on peut voir également une migration et un aplatissement des cellules folliculaires supérieures, de telle sorte que les cellules nourricières ne sont bientôt plus en contact avec l'ovocyte que par une zone circulaire étroite. A mesure que le vitellus se dépose — ceci est décelable par l'accumulation des granules protéiques dans l'ovocyte — le futur œuf s'allonge provoquant un étirement des cellules folliculaires et l'espacement de leurs noyaux. En même temps s'élabore l'endochorion. Quant aux cellules bordantes, leur rôle est de sécréter le chorion au niveau du micropyle.

Quand l'ovocyte a atteint les $2/3$ de sa taille définitive, les cellules nourricières dégèrent et très rapidement disparaissent.

Lorsque l'ovocyte a atteint sa taille définitive ($580\ \mu$), les cellules folliculaires achèvent le dépôt d'un exochorion orné de crêtes longitudinales et d'une délicate décoration en polygones accolés reproduisant le contour de ces cellules. La zone micropylaire est constituée par une sorte de cupule dont le fond est aminci. Les cellules folliculaires sont très distendues. Leurs noyaux sont écartés et leur disposition en files méridiennes apparaît nettement à ce moment. Les ovocytes, qui sont en prophase méiotique, sont prêts à être pondus et, lorsque l'environnement dispense à la femelle les stimuli nécessaires, la ponte a lieu.

2. Émission des ovocytes.

L'ovocyte est émis probablement par le jeu des fibres musculaires de l'enveloppe de l'ovaire et il se débarrasse des cellules folliculaires. Son passage provoque l'ouverture du réceptacle séminal (le processus mécanique peut expliquer cela à lui seul, mais un réflexe nerveux peut également intervenir) et les spermatozoïdes opèrent la fécondation.

L'émission d'un ovocyte est signalée par la présence, dans le calyx, des cellules folliculaires. L'ensemble formera un massif cellulaire en dégénérescence appelé « corps jaune », particulièrement net chez l'Oscinie.

L'émission des ovocytes mûrs d'un même ovaire n'est pas simultanée. On constate en effet une hétérogénéité de maturation dans les différents ovarioles, mais les pontes des ovocytes de même niveau sont cependant assez proches pour qu'on puisse repérer les cycles de maturation.

3. Cycles de vitellogenèse.

Chez l'Oscinie, comme chez bon nombre de Diptères, un seul rang d'ovocytes est mûr en même temps ; la vitellogenèse ne débute réellement dans le rang suivant que lorsque les premiers ovocytes ont été émis. En effet, au-dessus d'un ovocyte mûr, le follicule le plus avancé est en train d'effectuer la migration de ses cellules bordantes.

Si on bloque la ponte, par enlèvement de la plante-hôte par exemple, les premiers ovocytes régressent et la maturation des suivants est arrêtée (MOREAU, 1967).

Ainsi, chez l'Oscinie, on trouve au maximum 4 follicules constitués (et le plus souvent 3) dans un ovariole, le premier seul effectuant sa vitellogenèse.

Dans les conditions de mes élevages, 2 cycles seulement ont été observés. Au premier abord, le fonctionnement ovarien paraît anormalement lent. Nous en discutons plus loin.

4. Évolution du corps adipeux (Pl. II).

À l'émergence, avant toute prise de nourriture, l'abdomen de l'Oscinie femelle contient une grande quantité de sphères indépendantes, constituant le corps adipeux larvaire, chargées de réserves protéiques. À ce stade les ovocytes sont dépourvus de réserves. Trois à quatre jours plus tard, le 1^{er} cycle d'ovocytes est prêt à être pondu et on ne trouve plus trace, à la dissection, des sphères de corps adipeux. Les réserves protéiques qu'elles contenaient ont sans aucun doute contribué à l'élaboration du vitellus des ovocytes, mais les méthodes employées ne permettent pas de dire de quelle manière s'est opéré le transfert, du corps adipeux à l'ovaire.

Les réserves protéiques ont été élaborées au cours du 3^e stade larvaire. En effet, dans la larve de second stade, le corps adipeux est constitué de cordons de cellules de 20 μ de diamètre, dont le noyau ne dépasse pas 8 μ (pl. II fig. 1). Le cytoplasme, relativement dense, contient quelques inclusions lipidiques. Au cours du 3^e stade, le noyau s'accroît, probablement par endomitose, pour atteindre un diamètre maximal de 20 μ .

Au début du 3^e stade les cellules accroissent leur volume, se chargent de réserves lipidiques (pl. II fig. 2 : les plages claires sont dues à la dissolution des lipides par les fixateurs utilisés).

Vers la fin de ce stade, des globules protéiques apparaissent à la périphérie de la cellule (pl. II, fig. 3). Ils augmentent en taille et en nombre jusqu'à emplir entièrement la cellule « adipeuse » dans la larve prête à s'empurger. BERREUR (1965) a montré que chez la larve de *Calliphora erythrocephala* (MEIG.), la synthèse de ces protéines de réserve se fait au niveau de globules cytoplasmiques enrichis en RNA élaboré dans le noyau, ces globules effectuant une migration centrifuge vers la périphérie de la cellule.

Il est également intéressant de noter que le dépôt des plaquettes protéiques se produit d'abord dans les cellules du corps adipeux postérieur, puis, progressivement, dans les cellules de la partie antérieure (pl. II, fig. 4, 5).

IV. — CONCLUSIONS

Oscinella pusilla MEIG. montre, dans la nature, un pouvoir d'expansion important qui en fait un ravageur redouté des céréaliers des plaines européennes. Même en considérant l'existence de plusieurs générations annuelles, cette constatation semble paradoxale, si on se réfère à la fécondité que montre cette mouche en élevage groupé au laboratoire.

En effet, une Oscinie femelle pond un maximum de 25 à 30 œufs et parfois beaucoup moins. L'étude que nous venons de faire sur l'appareil génital permet de dégager d'ores et déjà des causes intrinsèques à cette faiblesse du taux de multiplication.

Ainsi, dans la souche d'*Oscinella pusilla* utilisée, le nombre d'ovarioles par ovaire varie entre 4 et 8 autour d'une moyenne de 6. De plus le fonctionnement de l'ovaire est très lent, La vitellogenèse s'opère par cycles successifs, la production d'un 2^e cycle d'ovocytes ne se réalisant qu'après l'émission d'une première série.

Nous avons décrit précédemment la succession des cycles et nos observations

concordent avec celles de HILLYER (1965) sur *Oscinella frit*. Dans notre élevage, deux cycles se produisent au maximum. HILLYER a observé que, sur 450 mouches, 35 p. 100 effectuaient 1 cycle, 48 p. 100 2 cycles, 14 p. 100 3 cycles et 1 p. 100 4 cycles.

Cependant, la possibilité de réaliser plus de deux cycles d'ovocytes et la remarquable capacité d'expansion de l'Oscinie dans la nature nous poussent à imaginer des causes extrinsèques, à savoir la nutrition de l'adulte et des larves.

1. — Nutrition imaginale

La nutrition de l'adulte chez les Diptères supérieurs est une nécessité car, à l'émergence, les ovaires des femelles sont réduits et toute la vitellogenèse reste à accomplir. De très nombreux travaux sur les besoins alimentaires des femelles de Diptères ont été réalisés (MISSONNIER, 1967).

Dans le cas particulier des Oscinies, nous nous reportons au travail de LE BERRE, CHEVIN, MOREAU (1961). Ces auteurs ont montré la nécessité d'une alimentation glucidique pour la survie des adultes. Les meilleurs résultats sont obtenus avec le saccharose et le miel, mais cette alimentation ne donne qu'une fécondité faible. La fécondité la plus importante est obtenue avec un mélange de lait et de saccharose. Cependant cette fécondité reste faible et inférieure aux potentialités de l'ovaire.

Dans notre élevage, les Oscinies adultes ont reçu une alimentation quotidienne renouvelée d'un mélange de 13 g de saccharose, plus 15 g de lait de régime Nido en poudre, pour 200 cm³ d'eau distillée. Sur le plan de la fécondité, nos résultats ont déjà été exposés.

À la dissection, le jabot des femelles âgées (s'étant déjà alimentées) montre une masse brunâtre compacte dont l'aspect rappelle celui d'un lait caillé. La présence de ce caillot indique sans doute une mauvaise assimilation de la solution nutritive et provoque certainement une gêne, ne serait-elle que mécanique, pour la mouche.

Nous avons essayé une solution nutritive contenant seulement 5 g de lait et 15 g de saccharose pour 200 cm³ d'eau. Le caillot est apparu moins volumineux, moins compact et fragmenté en éléments de petite taille. Mais, pour des raisons techniques, le contrôle de la fécondité n'a pas été effectué. Ce premier résultat reste à contrôler.

La nutrition imaginale de l'Oscinie joue donc un grand rôle et nécessite des apports glucidiques et protéiques. Cependant, on note qu'en l'absence de produits azotés, quelques œufs peuvent être pondus (LE BERRE *et al.*, 1961). Ce résultat va de pair avec l'utilisation rapide des réserves du corps adipeux larvaire que nous avons signalée plus haut. Ceci nous amène à discuter du rôle possible de la nutrition larvaire dans le pouvoir de reproduction des Oscinies.

2. — Nutrition larvaire

Les exigences nutritionnelles des larves de Diptères phytophages sont connues dans quelques cas (FRIEND *et al.*, 1958-1959 ; *in* MISSONNIER, 1967). Apparemment, elles ne diffèrent guère de celles des autres insectes. Pour expliquer les relations entre plante-hôte et insectes phytophages (oligophagie, résistance variétale) il faut donc faire appel à d'autres phénomènes.

SHAPIRO (1961, *in* MOREAU, 1967) a montré que la larve d'*Oscinella frit* L. possède des enzymes protéolytiques qui exercent, par digestion extra-orale, une lyse des tissus méristématiques de la jeune plante et que, de plus, il y aurait une relation

entre la résistance à la protéolyse et la résistance de la jeune plante de maïs vis-à-vis de l'Oscinie dans la nature.

Aucune étude semblable n'a encore été faite sur *Oscinella pusilla* et *Oscinella frit* en fonction de leurs plantes-hôtes préférentielles, mais il y a lieu de penser que l'adaptation de l'une ou l'autre espèce à sa plante-hôte découle des possibilités enzymatiques du phytophage.

Nos élevages d'*Oscinella pusilla* ont été menés sur pousses de blé, alors que, dans la nature, lorsque l'imago a la possibilité de choisir, la préférence va à l'orge (AGAPOVA, 1966). Le même auteur montre, par mesure de la taille des larves et pupes et de l'importance du corps gras, que *O. pusilla* est étroitement liée à sa plante-hôte : l'Orge. Il est regrettable qu'il n'ait pas effectué de comparaison avec le développement sur blé et que ses critères d'efficience nutritive ne portent pas sur la fécondité et la fertilité des adultes.

En plus des qualités intrinsèques des différents végétaux hôtes, il est probable que les conditions d'élevage influent sur leur état physiologique et leur composition biochimique. Il n'est pas certain en effet que l'éclairement continu et la température élevée conviennent parfaitement au jeune blé.

Nous venons de voir que la plante pouvait intervenir par sa composition biochimique lui conférant des qualités nutritives variables. Un autre aspect du problème peut être envisagé, c'est celui de la prise de nourriture, de son intensité en fonction des substances contenues dans le végétal. L'étude histologique des larves, que nous avons faite, montre un équipement sensoriel important (fig. 4 et 5). Celui-ci ne joue sans doute pas un grand rôle dans le choix de la plante-hôte, qui est effectué par la femelle au moment de la ponte. Mais il intervient probablement dans l'intensité de la prise de nourriture.

Le segment antérieur de la larve de 3^e stade (les stades précédents montrent des organes analogues, mais leur petitesse les rend plus difficiles à étudier) porte une paire d'antennes constituées d'une partie basale, proéminence cuticulaire, surmontée d'un bulbe ovale. Plus ventralement, on trouve deux organes latéraux que l'on peut assimiler à des palpes maxillaires. Ce sont deux zones cuticulaires portant un groupe de sensilles aplatis. Au-dessous de ces sensilles et antennes, se trouve un glomérule de cellules à noyau basal, possédant de grandes vacuoles, que l'on peut assimiler aux cellules tormogènes et trichogènes. En outre, un tractus nerveux, partant des différents organes sensoriels, se résout en un glomérule situé sous le précédent et prolongé

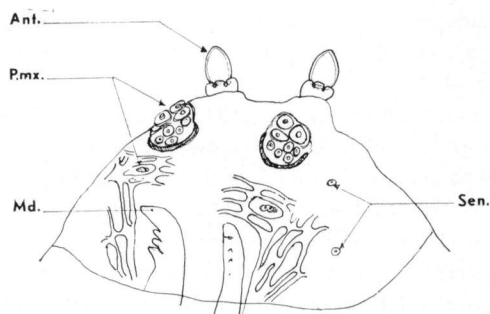


FIG. 4. — Masque facial de la larve de 3^e stade d'*Oscinella pusilla*
(Ant. : antennes ; P. mx. : palpes maxillaires ; Md. : Mandibules ; Sen. : sensilles)

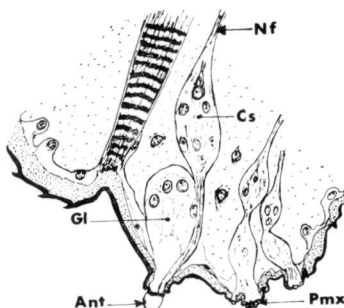


FIG. 5. — Schéma de l'organisation sensorielle de la partie antérieure de la larve de 3^e stade d'*Oscinella pusilla* (Gl. : Glomérule ; Cs. : cellules sensorielles ; Nf : nerf)

par un filet nerveux. Après des confluences non encore élucidées, ces filets aboutissent au cerveau. Le glomérule inférieur correspond aux cellules sensorielles des sensilles et leurs axones s'organisent en nerfs.

Le pharynx des larves montre, à son embouchure, des ornements cuticulaires dorsales et ventrales reliées à des tractus de type nerveux, que l'on peut assimiler aux « épiphyse » et « hypophyse » décrites par KEILIN (1915) à propos de diverses larves de Diptères Cyclorrhaphes. De plus, on trouve, à proximité de la chicane cuticulaire fermant l'embouchure de l'œsophage, une expansion cuticulaire placodale percée de canaux et en relation avec des structures nerveuses.

D'autres sensilles isolés sont dispersés sur les parois du corps de la larve.

Aucune étude de physiologie sensorielle n'a été faite, à notre connaissance, sur les larves de Diptères Cyclorrhaphes ; mais, par comparaison avec les phénomènes mis en évidence sur de nombreuses chenilles de Lépidoptères, il n'est pas interdit de penser que les organes décrits chez la larve de l'*Oscinie* possèdent des propriétés chimio-sensorielles. Cette conclusion serait d'ailleurs conforme avec la structure histologique de ces sensilles. Ceux-ci doivent intervenir dans la recherche de la plante-hôte, lorsque les œufs ont été pondus sur le sol. Ils interviennent également lors de la pénétration dans le végétal, quand la larve recherche la jeune tige. Enfin, mais cela reste à prouver, ils peuvent influencer sur l'intensité de la prise de nourriture lorsque le substrat ne présente pas les caractéristiques physico-chimiques adéquates.

Une troisième série de faits est à envisager au sujet de la nutrition larvaire. Il s'agit de la présence de microorganismes dans le mésentéron des larves de 3^e stade, microorganismes à faciès de bacilles que l'on retrouve dans le rectum des adultes.

La présence de bactéries dans la plante s'expliquerait par l'état de décomposition de la jeune tige dès le 2^e stade larvaire de l'*Oscinie*. Mais, quant à leur influence possible sur la nutrition de la larve, on ne peut rien affirmer actuellement. Des auteurs ont avancé l'existence de rapports symbiotiques entre les larves phytophages et les bactéries qui infectent la plante. D'autres auteurs ont montré la nécessité de la présence de bactéries dans des milieux synthétiques et une amélioration du rendement des élevages en présence des bactéries, vivantes ou tuées (HURPIN, 1966). Dans le cas de l'*Oscinie*, le rôle favorisant ou au contraire néfaste par concurrence alimentaire, ou encore pathogène, des microorganismes, ne peut être déterminé pour le moment.

Ces différents facteurs concernant le substrat alimentaire, joints aux facteurs d'environnement, jouent un rôle dans l'édification des réserves larvaires qui seront

utilisées par l'adulte pour assurer la reproduction. Il conviendra donc d'intervenir au niveau de ces facteurs pour déterminer ceux qui conditionnent une fécondité normale. Si aucune intervention ne se révélait favorable, une autre série de phénomènes pourrait être alors invoquée.

On pourrait envisager par exemple un vieillissement de la souche qui, par le jeu de la consanguinité et la sommation « d'effets prolongés » d'une alimentation déficiente (DAVID, 1960), entraînerait chez les descendants une baisse de fécondité et de fertilité. Ce phénomène apparaît chez la *Drosophila* après la 75^e génération.

Des travaux ultérieurs permettront peut-être de résoudre ces différents problèmes.

Reçu pour publication en février 1971.

REMERCIEMENTS

Il m'est agréable de remercier M. le Professeur LE BERRE qui m'a accueilli dans son laboratoire et m'a guidé de ses conseils tout au long de la réalisation de ce travail.

SUMMARY

PHYSIOLOGY OF REPRODUCTION AND DEVELOPMENT ASPECTS IN *OSCINELLA PUSILLA* MEIG. (DIPT. CHLOROPIDAE)

Female reproduction system of *Oscinella pusilla* MEIG. averages six polytrophic ovarioles. Dorsally the oviduct, differentiated in burs copulatrix, two paires of accessory glands emerge. Anteriorly showing a long duct winded in a closed up ball; they are homologous of the *Drosophila* spermatheca. For male, testes are formed probably by a single testicular tube and are connected with the vasa deferentia without differentiation of a vesiculae seminale.

In the development of the egg-laying behavior, color, elongation, stereotactic configuration and hygrosensitivity of substratum occur.

Vitellogenesis is realized by successive cycles. The first is carried out during the three first days of the adult life thanks to reserves of the larval fat-body. Adult food puts into good conditions the realization of the next cycles (till 4 cycles). Protein reserves of the fat-body are placed in the larva of third instar, first in the posterior part then in the anterior part of animal.

In young pupa, the fat-body cells, full of protein spheres, show pycnotic nucleus and become free one from others.

Reduced observed fecundity in our rearing (25 to 30 eggs per female to a maximum) have led us to consider several hypothesis for the role of the adult and larval food on the biochemical sensorial and symbiotic plans.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- AGAPOVA E. C., 1966. Role of host plants in the specific divergence of flies *Oscinella*. *Trudy vses. nauchn. Issled. Inst. Zashch. Rast.* Leningrad, **26**, 185-192.
- BALACHOWSKY A., MESNIL L., 1935. *Les insectes nuisibles aux plantes cultivées*. Vol. 1, Paris.
- BERREUR P., 1965. Étude expérimentale de l'action de l'hormone de mue sur l'évolution des acides nucléiques au cours de la métamorphose de *Calliphora erythrocephala* (MEIG.) Insecte, Diptère. *Arch. Zool. exper. gener.*, **106**, 531-624.
- CUMMINGS M. R., KING R. C., 1969. The cytology of the vitellogenic stages of oogenesis in *Drosophila melanogaster*. *J. morphol.*, **128**, 427-442.
- CUNLIFFE H., HODGES D. J., 1946. Studies on *Oscinella frit* L. Notes on the resistance of cereals to infestation. *Ann. appl. Biol.*, **33**, 339-360.

- DAVID J., 1960. Contribution à l'étude du déterminisme de certains caractères quantitatifs chez l'imagó de *Drosophila*. *Ann. Univ. Lyon*, **12**, 153-180.
- HILLYER R. J., 1965. Individual variation in ovary. Development and in reproductive behaviour of *Oscinella frit* L. (Diptera). *XIIth Intern. Congr. Entomol.*, London, 390.
- HURPIN B., 1966. Role des microorganismes dans les processus digestifs chez les insectes. *Rev. Zool. agric. appl.*, **65**, 63-77.
- IBBOTSON A., 1959. Observations on the oviposition behaviour of Frit Fly, *Oscinella frit* L. (Dipt. *Chloropidae*). *Entomol. exper. appl.*, **3**, 84-92.
- JONES M. C., 1969. Oviposition of frit fly (*Oscinella frit* L.) on oat seedlings and subsequent larval development. *J. appl. Ecol.*, **6**, 411-424.
- KEILIN D., 1915. *Recherches sur les larves de Diptères cyclorrhaphes*. Thèse Doctorat, Paris.
- LAUGÉ C., BORDON J., 1971 a. Principales étapes du développement post-embryonnaire du testicule d'*Oscinella pusilla* MEIG. (Dipt. *Chloropidae*). *C. R. Acad. Sci.*, Paris (sous presse).
- LAUGÉ G., BORDON J., 1971 b. Principales étapes du développement post-embryonnaire de l'ovaire d'*Oscinella pusilla* MEIG. (Dipt. *Chloropidae*). *C. R. Acad. Sci.* Paris, (sous presse).
- LE BERRE J.-R., 1959. Étude entreprise sur les Oscinies dans le cadre des recherches relatives aux immunités végétales à l'égard des Insectes. *Meded. Landbouwhoges. Oepzie. Gent*, **24**, 593-610.
- LE BERRE J.-R., 1960. Le rôle de la sélection et de l'adaptation animale dans l'étude des immunités végétales à l'égard des Insectes. *Conf. Scient. pour la Protection des Plantes*, Budapest, 271-280.
- LE BERRE J.-R., CHEVIN H., MOREAU J. P., 1961. Longévité, fécondité et nutrition de deux Diptères, *Oscinella frit* L. et *Hydrellia griseola* FALL. *Rev. Zool. Agric. appl.*, **60**, 151-161.
- MILLER A., 1950. *The internal anatomy and histology of the imago of Drosophila melanogaster*. In Demerec New York, Wiley.
- MISSONNIER J., STENGEL M., 1966. Étude des facteurs de fécondité des adultes de *Chortophila brassicae* B., *Hylemyia antiqua* MEIG., et *Pegomyia betae* CURT., *Ann. Épiphyties*, **17** (1), 5-41.
- MISSONNIER J., 1967. Influence de la nutrition sur la multiplication des Anthomyiides. *Meded. Rijksfaculteit Landbouwwetenschappen Gent*, **32**, 338-356.
- MOREAU J.-P., 1963. Contribution à l'étude éthologique de deux espèces d'Oscinies *Oscinella frit* L. et *O. pusilla* M. (Dipt. *Chloropidae*). *C. R. Acad. Sci.*, **256**, 1831-1833.
- MOREAU J.-P., 1967. Analyse expérimentale de quelques causes de résistance des céréales aux insectes, l'exemple des Oscinies (*Oscinella frit* L. et *Oscinella pusilla* M.). *Meded. Rijksfaculteit Landbouwwetenschappen Gent*, **32**, 318-327.
- SANDERS W., 1960. Ein Beitrag zum Verhalten von *Oscinella frit* L. bei der Eiablage, *Z. Angew. Zool.* **47**, 335-341.

PLANCHE I

FIG. 1

Coupe oblique dans un testicule d'Oscinie adulte, montrant les faisceaux de spermatides (st), les spermatogonies apicales (sg) et les spermatocytes (sc).

FIG. 2

Coupe sagittale du testicule montrant la masse de spermatozoïdes (sz) accumulés à la base de l'organe.

FIG. 3

Ovariole à l'émergence. Trois follicules (f) sont constitués. En haut le germarium (g).

FIG. 4

Début de vitellogenèse (v). Migration des cellules bordantes (b).

FIG. 5 et 6

Vitellogenèse avancée. Début du dépôt du chorion (ch). On distingue en 5 les cellules bordantes (b) en fin de migration et en 6 le noyau de l'ovocyte (o), avec en son centre le caryosome et le nucléole.

(t) trophocytes : (cf) cellules folliculaires

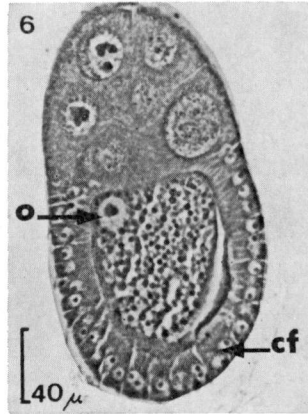
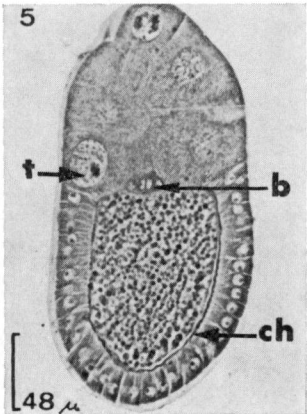
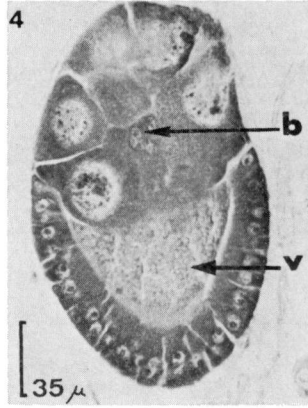
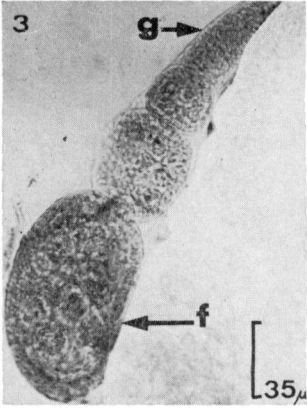
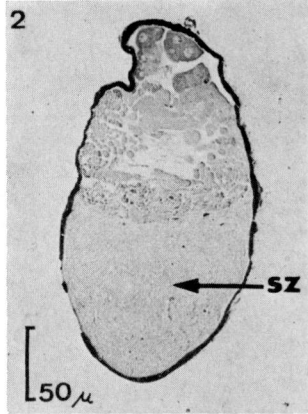
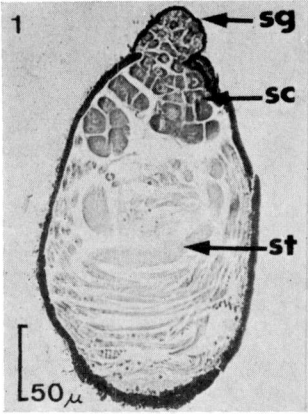


PLANCHE II

Évolution post-embryonnaire du corps adipeux de l'Oscinie

FIG. 1

Corps adipeux de la larve de 2^e stade.

FIG. 2

Jeune larve de 3^e stade. Corps adipeux chargé de lipides.

FIG. 3

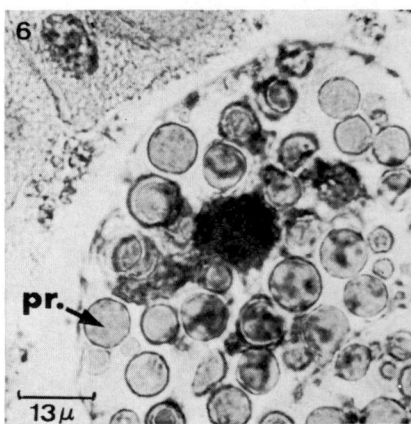
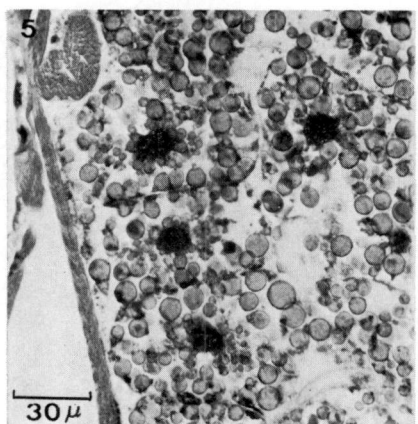
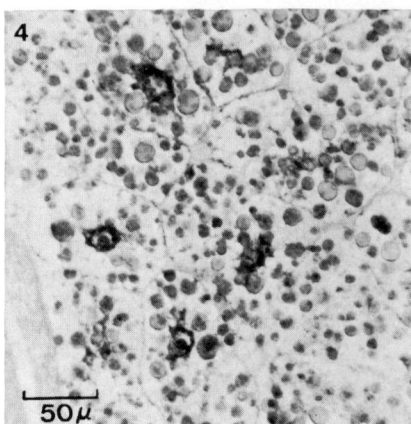
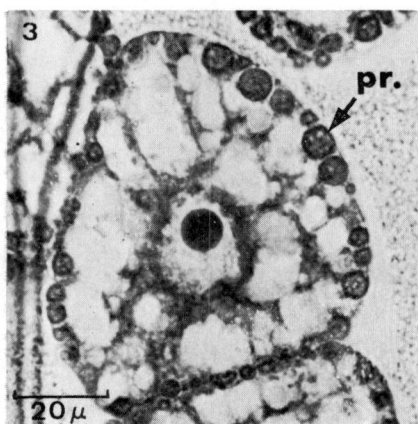
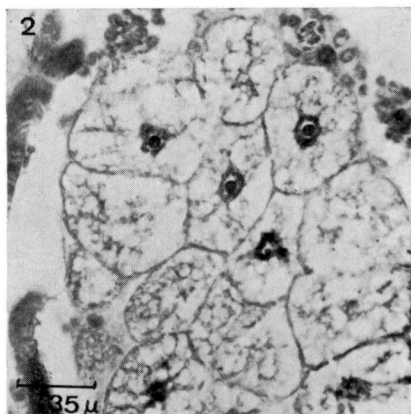
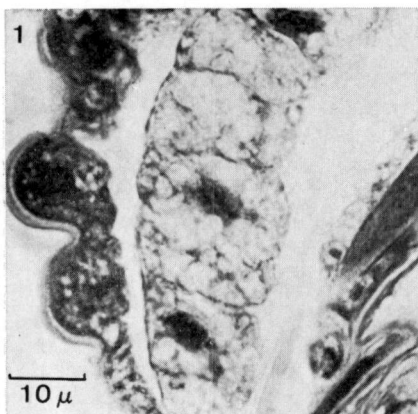
Dépôt de globules protéiques (pr) dans les cellules du corps adipeux de la larve âgée de 3^e stade.

FIG. 4

Corps adipeux de la partie antérieure de la jeune pupe

FIG. 5 et 6

Corps adipeux de la partie postérieure de la jeune pupe. Noter l'aspect pycnotique des noyaux. En 6, détail d'une cellule chargée de réserves protéiques (pr).



HAPLOTHRIPS TRITICI KURDJ. ET LIMOTHRIPS CEREALIMUM HAL. AGENTS DE LA MOUCHETURE DES BLÉS DURS

A. BOURNIER et P. BERNAUX

avec la collaboration technique de Y. PIVOT, Germaine BERTI et A. PASCAL

*Laboratoire de Recherches des Chaires de Zoologie et de Botanique,
Centre de Recherches de Montpellier, I. N. R. A.,
École nationale supérieure agronomique,
34 - Montpellier*

RÉSUMÉ

La moucheture ou mouchetage est une brunissure de certaines parties du péricarpe des grains de Blé. Ces taches se trouvent soit sur le germe, soit sur le dos ou dans le sillon du grain. Ce sont ces dernières qui sont les plus graves, car impossibles à éliminer lors du blutage. Les blés durs mouchetés sont fortement dépréciés.

Des recherches ont montré que les agents responsables de la moucheture du dos et du sillon sont des Thysanoptères : *Haplothrips tritici* KURDJ. et *Limothrips cerealium* HALIDAY. Les larves de ces deux espèces s'introduisent sous les glumelles au moment où le grain est à l'état laiteux ou pâteux. Leurs piqûres tuent des groupes de cellules du péricarpe qui brunissent ensuite provoquant le dégât.

La biologie des deux espèces nuisibles est indiquée. La méthode de lutte la plus recommandable paraît être la création de variétés de blé dur possédant des caractères interdisant aux Thrips la pénétration sous les glumelles.

La « moucheture » ou « mouchetage » est un accident qui entraîne, sur les blés durs en particulier, une dépréciation considérable des récoltes. Il semble que, sous ce vocable, employé cependant depuis très longtemps par les agronomes, on ait désigné des dégâts d'origine et même souvent de nature différentes. Les anciens auteurs appelaient grain moucheté « celui qui est attaqué en entier ou en partie par la carie ou le charbon ou le plus souvent sali extérieurement par les spores de ces champignons sans qu'il y ait infection ». Ces grains étaient aussi qualifiés de « boutés ». En 1929, DUCELLIER propose de réserver ce dernier terme pour désigner les souillures dues à la carie et au charbon et d'appeler grains mouchetés ceux qui présentent une brunissure du péricarpe. Ce sens est consacré par les travaux de LAUMONT (1930 et 1934) et de quelques autres auteurs qui ont étudié la « moucheture » ou « mouchetage » du Blé. Nous croyons cependant, ainsi que nous allons essayer de le montrer ici, qu'il

est nécessaire de distinguer plusieurs types de moucheture dont l'un au moins aurait pour cause l'action des Thysanoptères.

Nous avons suivi au cours de ces dernières années ⁽¹⁾ quelques variétés de blé dur réputées « sensibles à la moucheture » et nous avons noté que ce brunissement du péricarpe peut être observé généralement au niveau du germe, avec une intensité maximale autour du point d'insertion du caryopse, mais aussi très souvent dans le sillon du grain et plus rarement sur la face dorsale ou ventrale de celui-ci. Or l'utilisation des semoules de blé dur pour la fabrication des pâtes alimentaires conduit à attribuer une importance bien différente à la moucheture du germe et à celle du sillon. En effet tandis que tout le péricarpe recouvrant les parties convexes du grain est éliminé lors du broyage et du blutage, le tégument protégeant le sillon reste dans les semoules. Dans le cas où le pourcentage de grains mouchetés est important, on obtient des semoules souillées de nombreuses ponctuations brunes qui se retrouveraient ensuite à la surface des pâtes alimentaires. L'aspect déplaisant du produit fabriqué nuirait alors considérablement à sa commercialisation ce qui entraîne le rejet des lots comportant une trop grande proportion de graines présentant une moucheture du sillon.

C'est L. DUCELLIER (1929) qui, le premier, a soupçonné les Thysanoptères d'être l'agent de la moucheture du blé en Algérie. P. LAUMONT (1930) émettait cette hypothèse. L'auteur note les dates d'apparition des Thrips sur le Blé, il observe les larves sous les glumelles du grain laiteux et note les dégâts infligés au péricarpe et aux glumelles, cependant, il admet que toute brunissure du tégument a pour cause les piqûres de l'insecte. D'autre part, il donne, des espèces incriminées, des déterminations qui ne sont pas toujours exactes. *Thrips decora* HAL. (actuellement *Taeniothrips picipes* ZETT) a sans doute été mal identifié, quant à *Aeolothrips fasciatus* HAL., il n'est pas nuisible aux céréales. L'agent de la moucheture que nous avons surtout observé dans le Midi méditerranéen est *Haplothrips tritici* KURDJ. Parfois, mais plus rarement, on trouve aussi *Limothrips cerealium* HAL. Cependant cette espèce paraît être beaucoup plus fréquente dans les régions plus septentrionales.

Nous donnerons ici une brève description ⁽²⁾ de chacun des stades de ces deux espèces ainsi que leur biologie avant de présenter le dégât et son mécanisme.

« HAPLOTHRIPS TRITICI » KURDJUMOV

Cette espèce appartient au sous-ordre des Tubulifera, famille des *Phloeothripidae* (fig. 1). La femelle de 1,5 mm de longueur est noire à l'exception de l'extrémité du tibia et du tarse antérieur. Les antennes à 8 articles sont noires aussi, sauf l'extrémité du 2^e, le 3^e en entier et la base du 4^e qui sont plus clairs. Les ailes hyalines sont, au repos, repliées sur les tergites thoraciques et abdominaux ; elles y sont maintenues

⁽¹⁾ Nous adressons ici nos biens sincères remerciements à P. GRIGNAC, maître-assistant à la Chaire d'Agriculture de l'E. N. S. A. Montpellier qui nous a beaucoup aidés. Il nous a fait part des observations qu'il avait déjà faites sur la résistance de diverses variétés à la moucheture et a mis à notre disposition les moyens de poursuivre nos essais dans ce sens.

⁽²⁾ Pour une description complète consulter l'excellent ouvrage de H. PRIESNER (1928) *Die Thysanopteren Europas* (voir bibliographie).

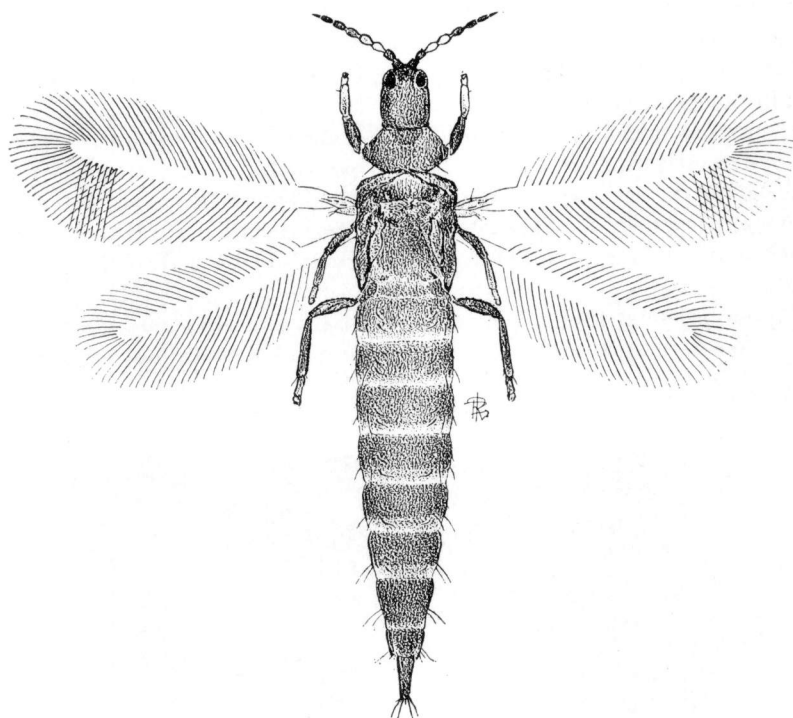


FIG. 1. — *Haplothrips tritici* KURDJ. *Femelle*

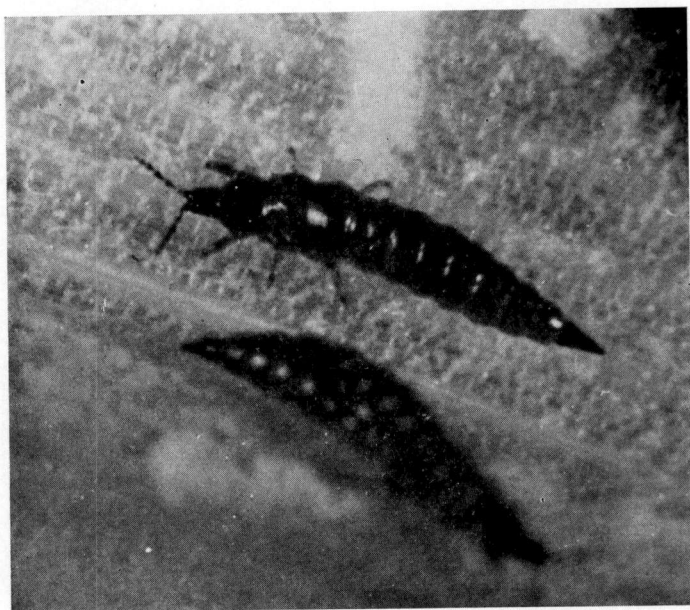


FIG. 2. — *Haplothrips tritici* KURDJ. *Larve du 2^e stade, à l'intérieur d'un chaume au mois d'octobre*

par de fortes soies en crochets. Ces ailes, absolument dépourvues de nervation, sont frangées de soies sur leur pourtour, les antérieures ont à l'apex de leur bord postérieur une double frange de 5 à 8 soies. Le 10^e segment abdominal forme un tube 2 fois et demie plus long que large.

Le mâle est tout à fait comparable à la femelle mais il est un peu plus petit et son abdomen est plus grêle et plus effilé à l'extrémité.

Les larves du 1^{er} et du 2^e stade ont grossièrement la forme de l'adulte mais évidemment pas d'ailes. Sauf les antennes, la tête, les pattes, les plaques du pronotum et les segments abdominaux 9 et 10 qui sont noirs, le reste du corps est rouge vif (fig. 2).

La pronympe et les deux stades nymphaux sont elles aussi d'un beau rouge. Toutes les parties qui étaient noires chez la larve, plus ici les fourreaux alaires, sont



FIG. 3. — *Haplothrips tritici* KURDJ. Nymphes à l'intérieur d'un chaume au mois de mars

blancs. La première ressemble beaucoup à la larve du 2^e stade mais les fourreaux antennaires sont courts et dirigés vers l'avant.

La nymphe du 1^{er} stade a les fourreaux antennaires rabattus vers l'arrière et

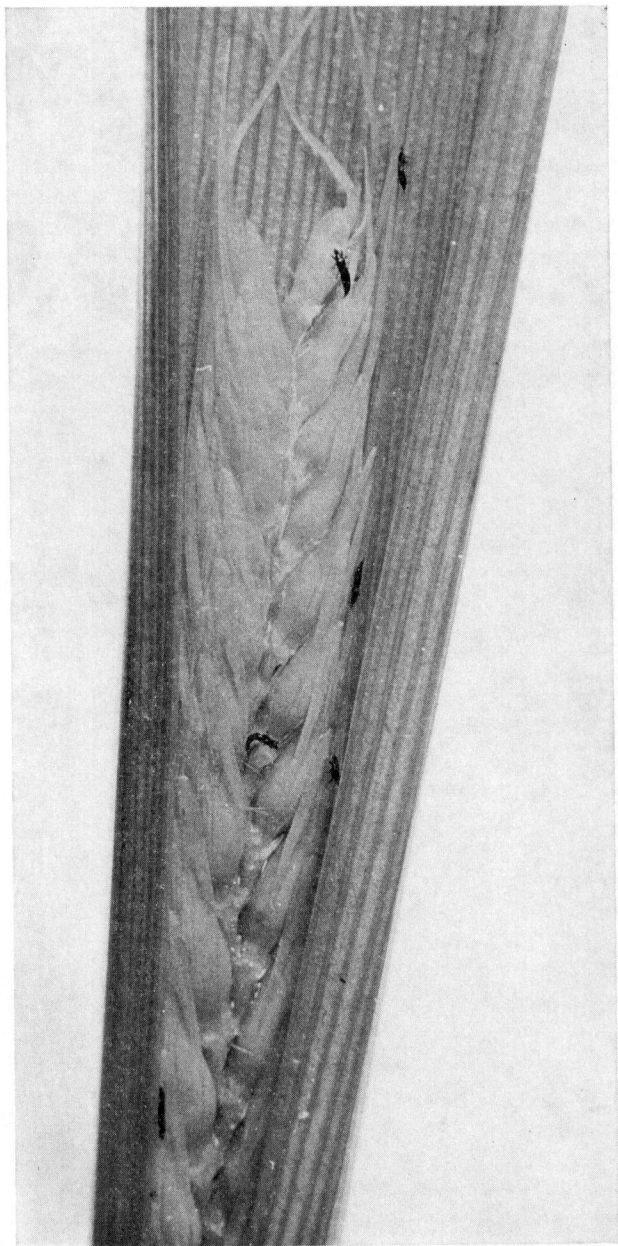


FIG. 4. — *Les femelles d'Haplothrips tritici vont pondre dans l'épi qui n'est pas encore dégagé de la gaine foliaire*

qui atteignent le bord antérieur du pronotum. Les fourreaux alaires ne dépassent pas le 2^e segment abdominal.

La nymphe du 2^e stade a les fourreaux antennaires plus longs, les fourreaux alaires atteignent le 8^e segment abdominal (fig. 3).

Biologie

Dans le Languedoc méditerranéen, les adultes paraissent dès la première décade d'avril et volent à la recherche des blés ayant formé leur dernière feuille. Ils se posent à l'aisselle de celle-ci autour de la ligule et s'accouplent. Dès que la ligule s'ouvre assez ils pénètrent dans la gaine et vont sur l'épi (fig. 4). Les œufs, ellipsoïdes, de 300 μ de long, ont un chorion transparent ; ils sont pondus à l'aisselle des épillets ou à la base externe de la glumelle ; ils sont isolés ou par groupes de trois ou quatre, collés par un mucus sur le tomentum (fig. 5). L'incubation dure 9 à 10 jours. L'épi étant alors sorti de sa gaine la plupart des adultes le quittent pour aller pondre sur

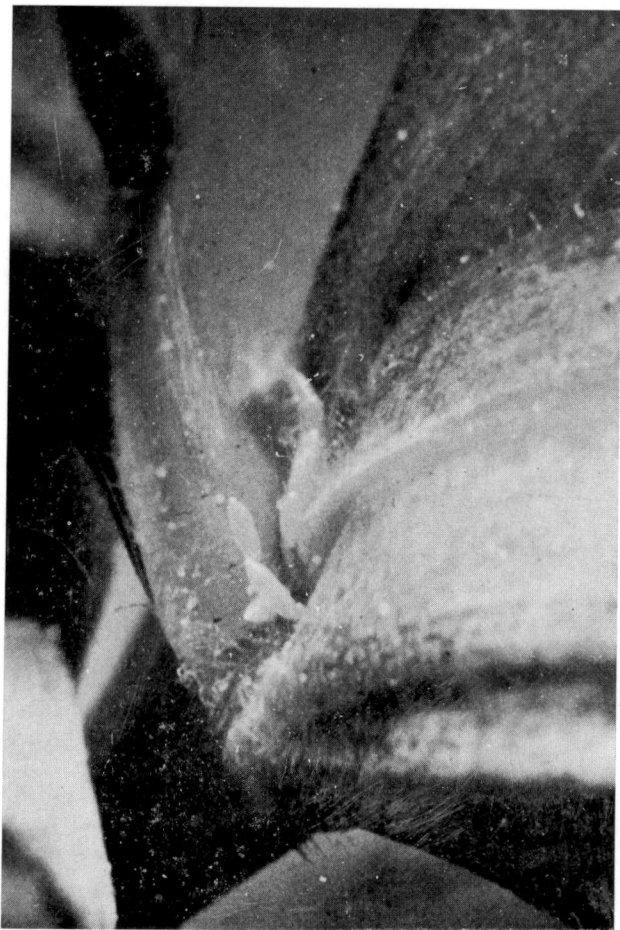


FIG. 5. — *Ponte d'Haplothrips tritici* KURDJ.

un autre pied de blé à un stade propice. Les larves néonates se nourrissent sur les glumelles puis passent à l'intérieur de la fleur qui peut alors être stérilisée par les piqures. Mais c'est surtout au moment où le grain a presque atteint sa taille maximale et se trouve à l'état laiteux que les larves passent entre les glumelles, atteignent la brosse et se glissent dans le sillon du grain où elles piquent le péricarpe. Le stade I dure 3 à 4 jours, le stade II, 20 à 23 jours. Lorsqu'elles ont terminé leur croissance les larves sortent des glumelles et se laissent tomber sur le sol. Suivant la structure superficielle de celui-ci, elles pénètrent à des profondeurs variant de 20 à 35 cm et entrent en diapause dans la première quinzaine de juillet. Elles passent l'été dans le sol, et au moins en ce qui concerne le Midi méditerranéen, une expérimentation répétée sur trois ans (1967-1970) nous a permis de constater que, contrairement à tout ce qui a été écrit, les larves ressortent du sol dès le début octobre et passent l'hiver sous les litières et surtout dans les chaumes (fig. 2). Cette observation rejoint sans doute celle de TANSKY (1958) qui constate au Kazakhstan que la destruction des chaumes entraîne 65 à 75 p. 100 de mortalité des larves mais qui l'explique par le fait que ceux-ci évitent que la couche de neige protectrice ne soit balayée par le vent. Ces larves résistent très bien au froid : nous avons noté qu'elles ont survécu à une température oscillant pendant deux jours autour de -9°C . Dès la mi-mars la nymphose a lieu (fig. 3). Les trois stades — pronympe, nymphe I, nymphe II — durent quelques jours à peine et les adultes paraissent début avril.

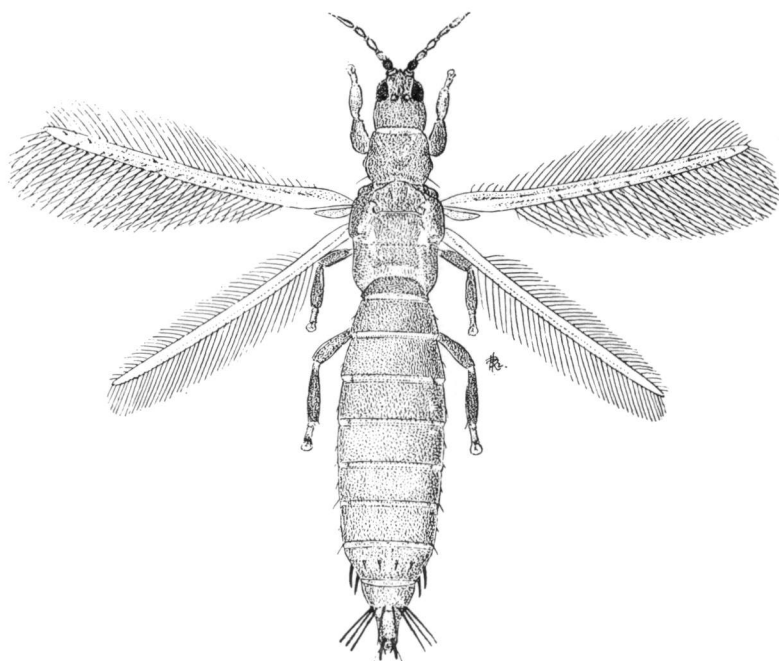
Cette espèce est répandue dans toute l'Europe mais ne pullule guère que dans les biotopes assez chauds. C'est donc surtout dans les pays méridionaux qu'on peut enregistrer ses dégâts. Nous l'avons déterminée d'Italie, de Yougoslavie, de Grèce, de Turquie et même d'Iran. Elle est sans doute aussi en Algérie puisque LAUMONT, sans la nommer, a observé ses larves rouges sous les glumelles.

« LIMOTHRIPS CEREALIIUM » HALIDAY

Cette espèce appartient au sous-ordre des Terebrantia. La femelle mesure 1,6 à 1,8 mm de longueur (fig. 6). Son corps a une coloration qui peut varier du brun clair au noir. Les pattes sont noires, sauf le tibia antérieur et les tarses qui sont jaunâtres. Les ailes sont hyalines et bordées d'une frange de soies. L'antérieure porte une seule nervure, bifurquée en son tiers proximal. Les antennes ont huit segments : les deux premiers sont brun foncé, le troisième est clair, les autres de plus en plus foncés. Le sixième est piriforme et les deux derniers, très petits, formant un style. Comme toutes les espèces de ce genre, *L. cerealium* porte sur les bords latéraux du tergite 8 deux paires de soies très épaisses. Le 10^e segment est conique et pointu mais non tubulaire comme chez *H. tritici*. On observe sur la face ventrale une tarière à quatre valves, normalement repliée vers l'arrière et logée dans une dépression des sternites 8, 9, 10.

Le mâle est nettement plus petit que la femelle et toujours aptère. Il porte au centre de chacune des sternites 3 à 7 une aire glandulaire punctiforme.

Les larves des 1^{er} et 2^e stades ont grossièrement la forme de l'adulte. Elles sont d'une couleur blanc jaunâtre et la transparence du tégument permet d'observer le mésentéron coloré par les chloroplastes des contenus cellulaires qu'elles ont ingérés.

FIG. 6. — *Limothrips cerealium* HAL. *Femelle*

Les deux stades nymphaux sont d'un blanc hyalin. La pronympe présente des fourreaux antennaires légèrement recourbés et des fourreaux alaires courts. La nymphe a des fourreaux antennaires repliés vers l'arrière et des fourreaux alaires plus longs.

Biologie

Le développement de cette espèce a été étudié par de nombreux auteurs (VAN ECKE, 1922 ; PRIESNER, 1925 ; MORISON, 1928 et 1943 ; KORTING, 1930 ; SHARGA, 1933 ; JOHANSSON, 1938). T. LEWIS (1959) a fait une excellente synthèse de ces travaux y ajoutant des observations personnelles.

Les femelles déjà fécondées hivernent dans les litières ou sous les écorces. Dans notre pays elles sortent dès la mi-avril et volent à la recherche des Graminées. Elles se nourrissent sur les feuilles les plus tendres et pondent à la base de celles-ci mais surtout à l'intérieur de la gaine la plus récente. Elles se déplacent sur la plante recherchant les parties les plus tendres, puis passent sur l'épi lorsque celui-ci s'est dégagé et pondent à l'intérieur des glumes et même dans les jeunes ovaires. Les œufs sont insérés à l'aide de la tarière sous l'épiderme du végétal. A l'éclosion, les jeunes larves se nourrissent sur la même plante : soit dans les gaines, soit dans l'épi. Dans ce dernier cas, comme pour *H. tritici*, elles provoquent soit une stérilisation de la fleur dans le cas de piqûres sur l'ovaire, soit de la moucheture lorsqu'il s'agit d'un grain déjà formé et au stade laiteux. La nymphose se produit dès que la larve du 2^e stade a terminé sa croissance. On trouve pronymphes et nymphes soit dans les gaines, soit

dans les épis. Les mâles paraissent dès le début juin. Ils fécondent les femelles et meurent rapidement. Les femelles quittent leur plante-hôte à la fin juillet avant de gagner leurs gîtes d'hivernation. Ces vols massifs ont souvent lieu lorsque le temps est orageux d'où le nom de « thunder flies » donné à cette espèce par les Anglo-Saxons. Ils ont été particulièrement spectaculaires en 1969. Les insectes incommode l'homme par leurs piqûres et pénètrent parfois en quantités innombrables dans les habitations.

Il n'y a en France qu'une seule génération. Cependant on en signale deux dans le nord de l'Écosse (MORISON, 1943) dans le nord de l'Allemagne (KORTING, 1930) et en Hollande (FRANSSSEN et MANTEL, 1965). En Suède, JOHANSSON (1938) pense qu'une troisième génération partielle peut se développer sur les graminées sauvages encore vertes. L'espèce a une aire de répartition considérable. Elle se trouve dans l'Europe entière, en Amérique du Nord, en Afrique du Nord et on l'a même signalée aux Seychelles et aux Hawaï.

Dégâts

Nous distinguerons trois types de dégâts :

- dégâts au stade préfloraison,
- moucheture du sillon et du dos du grain,
- moucheture du germe.

a) Dégâts au stade préfloraison

Lorsque les larves pénètrent en nombre (5 ou 6) dans une fleur non fécondée, leurs piqûres sur les filets des étamines et sur l'ovaire entraînent la stérilisation de la fleur. Des piqûres de larves d'*Haplothrips tritici* sur l'ovaire au moment de sa transformation en caryopse provoqueraient des déformations de grains (BANITZA, 1969).

b) Moucheture du sillon

Lorsqu'on examine des grains à l'état pâteux, chaque fois que l'on est en présence d'une moucheture du sillon, on trouve dans celui-ci, soit une ou plusieurs larves vivantes, soit une ou plusieurs exuvies larvaires de Thrips.

Le dégât se produit lorsque le grain est au stade laiteux. Les larves, une ou deux, rarement plus, s'introduisent entre les glumelles et se localisent dans le sillon du grain ; elles piquent les cellules du péricarpe à ce niveau, injectent leur salive et aspirent le contenu cellulaire ayant subi un début de lyse. Cette salive diffuse à travers les parois et tue ainsi un grand nombre de cellules voisines. Parfois, mais beaucoup plus rarement, les insectes passent sur l'autre face du grain. Sur le péricarpe vert, la nécrose des cellules atteintes est peu visible ; elle donne un aspect vitreux à ces cellules ; elle n'est apparente que sur le péricarpe durci ; la zone intéressée par les piqûres des larves prend alors une coloration brune (fig. 7).

Anatomiquement, cette nécrose n'intéresse que le péricarpe ; les membranes des cellules tuées se sont imprégnées de subérine ; arrêtées dans leur évolution, elles ont conservé leur morphologie primitive de cellule parenchymateuse (petites, arrondies en coupe transversale) ; leur membrane mince est subérisée. Au contraire, les cellules voisines de la nécrose, intactes, évoluent normalement ; leur membrane s'épaissit, se durcit, se sclérifie ; elles deviennent grosses, polyédriques, à membrane épaisse canaliculée (fig. 8).

Dans les zones nécrosées du sillon, nous avons recherché la présence de champignons. Nous n'avons pu en mettre aucun en évidence à l'intérieur des cellules.

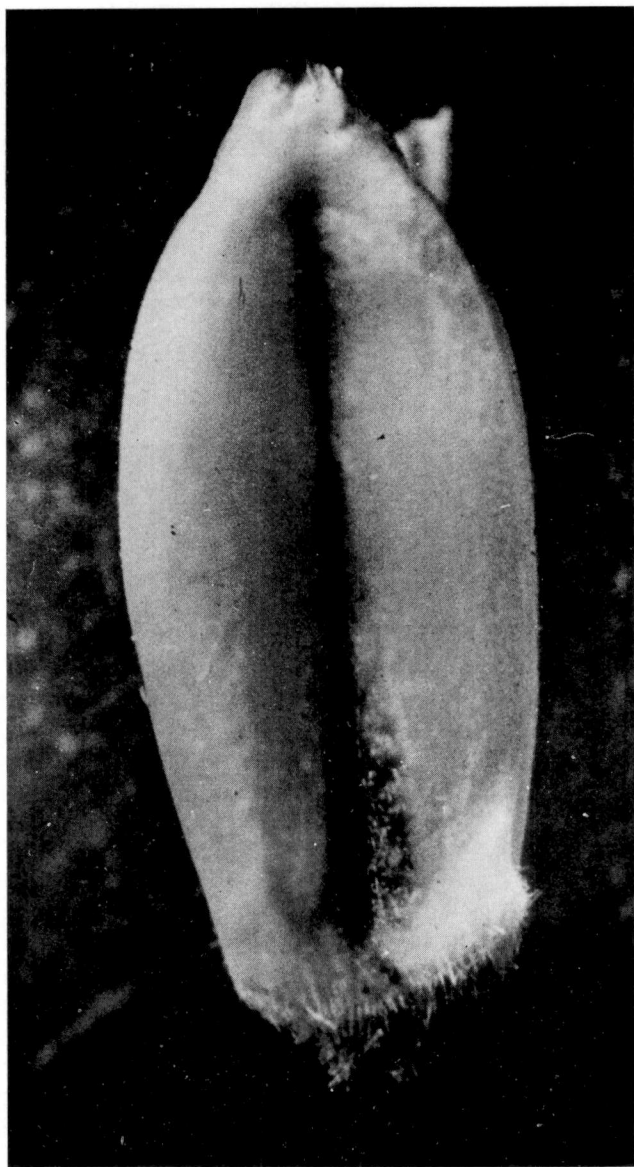


FIG. 7. — *Moucheture du sillon*

Par contre, à la surface des zones nécrosées, comme au fond du sillon, toutes régions que les larves parcourent en laissant des déjections, nous avons relevé des champignons parmi lesquels les plus fréquents étaient :

Cladosporium herbarum LINK.

Alternaria tenuis NEES.

Fusarium sp.

Penicillium sp.

et des bactéries.

Le *Cladosporium herbarum* LINK. est le plus fréquent de tous ; cependant nous ne le considérons pas comme l'origine des dégâts que nous venons de décrire. En effet, nous avons réalisé de nombreux essais d'isolement de microorganismes sur malt gélosé :

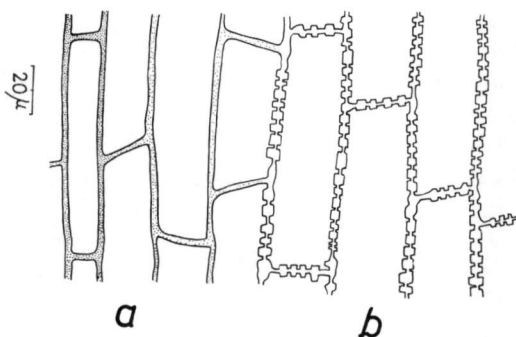


FIG. 8. — Cellules du péricarpe

- a. Zone de cellules arrêtées dans leur évolution par suite de la piqûre des Thrips ;
les membranes sont imprégnées de subérine
- b. Zone de cellules intactes, ayant évolué normalement ;
la membrane est épaissie, sclérifiée, canaliculée

a) à partir d'étamines : avant la déhiscence aucun organisme n'était présent ; sur les étamines exertes et vidées de leur pollen le *Cladosporium herbarum* est de beaucoup le plus fréquent ;

b) à partir d'ovaires : à plusieurs stades, avant ou après la fécondation, à partir de zones nécrosées ou non, nous avons obtenu des colonies de *Cladosporium herbarum* ; à notre avis il s'agit de spores véhiculées par les insectes qui pénètrent très tôt à l'intérieur des épillets. Nous avons également isolé ce même champignon parmi les poils de la brosse, zone particulièrement favorable à la rétention des spores.

Le *Cladosporium* se développe sur les organes végétaux morts (étamines) et sur les déjections des Thrips. Il est véhiculé par les larves et les adultes. Un examen microbiologique a révélé la présence de conidies à la surface du corps des insectes et de leurs œufs.

Il semble donc bien que les piqûres nutritionnelles des Thrips provoquent la moucheture du sillon.

c) Moucheture du germe

C'est la moucheture de la zone qui se trouve à la base du grain, au niveau de laquelle le péricarpe est froissé, lâche, durcissant plus tardivement qu'au niveau du sillon, sans contact étroit avec la partie sous-jacente du caryopse : le germe.

Au point de vue technologique le brunissement de cette zone est moins grave de conséquence que la moucheture du sillon, car elle disparaît lors de l'usinage des

grains. Par contre, sur le plan agronomique, l'existence de mycelium entre le péri-carpe et l'embryon peut être grave lors de la germination, même s'il s'agit d'un champignon faiblement pathogène il peut provoquer des dégâts à la levée surtout si celle-ci se produit dans des conditions peu favorables.

Nous n'avons jamais trouvé de larves en ce point en raison du contact étroit des glumelles et du grain.

Les diverses variétés de blé dur présentent des sensibilités différentes à la moucheure. Parmi les plus atteintes citons *Montferrier* et *Bidi 17* ; on n'en connaît pas de complètement résistante. Les pourcentages de grains mouchetés varient aussi avec les lieux et les années, c'est-à-dire avec les taux de pullulation de Thrips, ainsi que l'ont montré des observations échelonnées sur sept ans (1964-1970). Dans certaines régions, le Bassin aquitain par exemple, l'expansion de la culture des variétés de blé dur a été fortement freinée par le fait que les récoltes présentent des taux de grains mouchetés trop élevés.

Divers auteurs ont envisagé une lutte au moyen de procédés culturaux. Citons parmi ceux-ci l'éradication rapide des chaumes, et leur enfouissement, l'influence des labours sur la destruction des larves d'*Haplothrips tritici*. Nous pensons qu'étant donné que ces insectes sont assez bons voiliers et que, par ailleurs, ils sont emportés par le vent et parfois à des distances considérables, la réinfestation, surtout en pays de grande culture céréalière, est à peu près immédiate.

D'autre part, il est exclu d'envisager contre ces Thrips une méthode de lutte mettant en œuvre des traitements insecticides : cela ajouterait encore aux difficultés déjà trop nombreuses que connaissent les producteurs de blés durs. C'est, pensons-nous du côté de l'immunologie que se trouve la seule ressource. La résistance à la moucheure est conditionnée par tous les éléments qui gênent la pénétration de l'insecte sous les glumelles à partir du stade où le grain a acquis son volume maximal. Parmi ceux-ci, citons la faible déhiscence des glumelles, la longueur et la structure de la brosse. La solution au problème qui nous occupe pourrait donc nous être apportée par la création de variétés de blé dur ne présentant qu'un taux acceptable de moucheure du sillon.

Reçu pour publication en janvier 1971.

SUMMARY

HAPLOTHRIPS TRITICI KURDJ. AND *LIMOTHRIPS CEREALIMUM* HAL. LIKE AGENTS OF HARD WHEATS SPOT

Spot is a corn-blight or rot of certain parts of pericarp. These spots are placed either on germ, on back or in furrow of the grain. These later are the more heavy because it is impossible to remove during bolting. Hard smutty wheats are strongly underrated.

Searches have shown that responsible agents of the back and furrow spot are thysanoptera : *Haplothrips tritici* KURDJ. and *Limothrip cerealium* HALIDAY. The two species larvae enter under glumella when grain is in a milky or pasty state. Their bites kill pericarp cell groups which become dark after, giving rise to damages.

Biology of the two noxious species is indicated. The more advisable control method seems to be the perfecting of hard wheat varieties having characters which forbid the penetration under glumella for thrips.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- BANITZA E., 1969. Recherches destinées à prévoir les attaques de larves de *Thrips* sur grains de blé (en roumain, résumé en anglais). *Ann. Inst. Cerc. Prot. Pl.*, **5**, 183-194.
- DOEKSEN J., 1938. De Tarwegalmuggen *Contarinia tritici* KIRBY en *Sitodiplosis morscellana* GEHIN (*Diptera, Cecidomyiidae*) in Nederland. *Versl. techn. Tarwe Comm.*, **12**, 239-296.
- DUCELLIER L., 1929. Observations sur le conditionnement des céréales et modifications à apporter dans la rédaction du contrat de vente. *Bull. Soc. Agr., Alg.*, 1929.
- FRANSSEN C. J. H., MANTEL W., 1965. Les Thrips des Céréales (Biologie, importance économique, méthodes de lutte) (en hollandais). *Versl. Landbouwk. Onderz.*, **682**, 1-97.
- JOHANSSON E., 1938. Biologie des Thysanoptères des céréales et du gazon et leurs dégâts (en suédois). *Medd. Wäxtskyddsanst. Stockh.*, **24**, 1-65.
- KORTING A., 1930. Beitrag zur kenntnis der Lebensgewohnherten und der phytopathogenen Befdeutung einiger an Getreide lebende Thysanopteren. *Z. Angew. Ent.*, **16**, 451-512.
- LAUMONT P., 1930. Les dégâts causés aux céréales par les Thrips. *Rev. Agr. Afr. N.*
- LAUMONT P., MURAT M., 1964. Observations sur la moucheture et la mauvaise germination de quelques Blés en 1933. *Bull. Soc. Hist. Nat. Afr. N.*, **25**, 253-265.
- LEWIS T., 1959. The annual cycle of *Limothrips cerealium* HAL. and its distribution in a wheat field. *Ent. Exp. Appl.*, **2** (3), 187-203.
- MORISON G. D., 1928. Observations and records for some Thysanoptera of Great Britain. III. *Chirothrips manicatus* HAL. and *Limothrips* spp. *Ent. Mon. Mag.*, **64**, 189-196.
- MORISON G. D., 1943. Notes on Thysanoptera found on flax in the British Isles. *Ann. Appl. Biol.*, **30**, 251-259.
- MOUND L. A., 1969. Grain thrips or Thunder Flies. *Brit. Mus. Econ., Leaflets* **18**.
- NUORTEVA P., 1952. Eine Beziehung zwischen Thysanopterenschädigung und einer Pilzkrankheit bei Weizenkornen. *Ann. Ent. Fenn.*, **18**, 47.
- PRIESNER H., 1925. Die Winterquartiere der Thysanopteren. *Ent. Jb.*, **33-34**, 152-162.
- PRIESNER H., 1928. *Die Thysanopteren Europas*. Verlag Fritz Wagner, Berlin, 755 p.
- SHARGA U. S., 1933. Biology and life history of *Limothrips cerealium* HAL. and *Aptinotrips rufus* GMELIN feeding on Gramineae. *Ann. appl. Biol.*, **20**, 308-326.
- TANSKY V. I., 1958. Biologie du Thrips du Blé (*Haplothrips tritici* KURDJ.) dans le nord du Kazakhstan et essais de lutte par des procédés culturaux (en russe avec résumé en anglais). *Ent. Obozr.*, **37**, 785-797.
- VAN EECKE R. 1922. Première contribution à la connaissance des Thysanoptères néerlandais (en hollandais). *Natuurk. Verh. Holland. Maatsch. Wet.*, **9** (3), 1-143.

COMPARAISON DE LA TOXICITÉ DE DIVERS RATICIDES ANTICOAGULANTS A L'ÉGARD DU CAMPAGNOL DES CHAMPS, *MICROTUS ARVALIS* (PALLAS)

G. GROLLEAU

Laboratoire des Petits Vertébrés,
Centre national de Recherches zootechniques, I. N R. A.,
78 - Jouy-en-Josas

RÉSUMÉ

Ce travail fait partie d'une étude visant à remplacer le phosphure de zinc et la crimidine par un produit moins toxique à l'égard du gibier, dans la lutte contre le Campagnol des champs.

Les essais préliminaires, effectués selon la méthode de l'empoisonnement continu, furent rapidement abandonnés, les résultats ne permettant pas de différencier les divers anticoagulants (voir fig. 1).

Les essais suivants furent effectués sur des animaux d'élevage, selon la méthode préconisée par l'O. E. M. P. P., le critère principal étant la mortalité obtenue lorsque les consommations sont limitées à 1 ou 3 fois. Au total 1 400 *Microtus arvalis* furent intoxiqués au moyen de 7 produits différents (4 dérivés de l'hydroxy-coumarine et 3 dérivés de l'indanedione) 748 d'entre eux l'étant avec le seul chlorophacinone. Une première série d'essais comparant les 7 substances au même taux de 0,0075 p. 100, nous a montré que le chlorophacinone est le seul à assurer une mortalité élevée (environ 70 p. 100) après une consommation et une mortalité subtotale (environ 97 p. 100) après trois consommations (voir tabl. 1). Une deuxième série d'essais, effectuée avec quatre des autres substances, nous a montré que, pour 1 et 3 consommations, l'augmentation de la concentration du toxique ($\times 4$ et $\times 8$) n'entraîne celle des mortalités que de façon relativement faible et malgré tout insuffisante pour que l'on puisse envisager leur utilisation dans la lutte contre le Campagnol des champs (voir tabl. 2).

Le chlorophacinone apparaît à l'heure actuelle comme la seule substance anticoagulante utilisable pour la lutte contre *Microtus arvalis*.

INTRODUCTION

Ce travail fait partie d'une étude qui visait à remplacer le phosphure de zinc et la crimidine par un produit moins toxique à l'égard du gibier pour la lutte contre le Campagnol des Champs.

Dans une série d'essais préliminaires effectués notamment par Mariette L'HÉRI-TIER avec le concours de L. SAINT LÉGER, la méthode employée avait été celle de l'empoisonnement continu jusqu'à ce que mort s'ensuive. Cette méthode fut rapidement abandonnée car ni les courbes de mortalité obtenues, ni aucun paramètre de ces courbes (survie moyenne, survies extrêmes, etc.) ne permettaient de différencier les produits entre eux. A titre d'exemple, nous donnons ci-contre (voir fig. 1) un diagramme qui résume les résultats obtenus avec dix dérivés de la 4-hydroxycoumarine ou de la 1,3 indanedione.

C'est pourquoi les essais rapportés ici ont été effectués suivant la méthode recommandée par l'Organisation européenne et méditerranéenne pour la protection des plantes où le nombre des consommations d'appât empoisonné est limité à une et trois (1).

CONDITIONS DES ESSAIS

Les essais ont été effectués en laboratoire sur des animaux d'élevage dont la souche provient de l'ouest de la France (polders de Saint-Michel-en-l'Herm, Vendée).

Les principales conditions des essais se résument ainsi :

- les lots sont comparables en nombre, en sexe et en poids,
- la quantité d'appât offerte chaque jour excède sûrement les besoins (généralement 10 g) et les résidus non consommés sont pesés,
- l'observation des animaux en expérience est poursuivie pendant une période de trois semaines à partir du début de l'expérience et l'autopsie des cadavres permet de déceler la présence d'hémorragies,
- l'appât est constitué par du blé entier additionné d'anticoagulant et d'huile de vaseline de la façon suivante :

- la substance anticoagulante, sous forme technique ou pure, est finement broyée au mortier d'agate puis mélangée à de la farine de céréales, de telle façon que la proportion de matière active soit 20 fois plus élevée dans ce mélange que dans l'appât empoisonné final.
- ce mélange primaire est brassé avec du blé préalablement huilé (huile de vaseline codex) à 5 p. 100, jusqu'à obtention d'un mélange uniforme.

Les lots de campagnols utilisés comportaient généralement 20 individus. Chaque lot était constitué autant que possible de 10 mâles + 10 femelles. Les poids extrêmes variaient de 12 à 58 g pour les mâles et de 9 à 53 g pour les femelles, les moyennes respectives étant de l'ordre de 35 et 25 g. L'âge de ces animaux variait lui aussi de 2 à 12 mois, la majorité d'entre eux se situant entre 3 et 4 mois.

L'ensemble des résultats présentés ici ont été obtenus au cours de divers essais comparatifs restreints effectués au cours de ces dernières années. Néanmoins nous les avons réunis pour en alléger la présentation et parce que les essais nombreux effectués avec le chlorophacinone nous ont montré que, s'il existait une variabilité d'un essai à l'autre sur la mortalité obtenue et la valeur des survies (moyenne et extrêmes), cette variabilité était relativement faible.

RÉSULTATS

1. — *Comparaison de divers anticoagulants à une même dose*

Le tableau 1 résume les mortalités observées avec du blé empoisonné au taux de 0,0075 p. 100 de matière active. Le dénominateur de chaque fraction représente

(1) Cette méthode a été présentée par E. W. BENTLEY à la conférence O. E. M. P. P. sur la lutte contre les mammifères nuisibles qui s'est tenue à Londres du 30 septembre au 3 octobre 1958.

le nombre d'animaux mis en expérience, le numérateur celui des morts observées au cours des trois semaines suivant l'empoisonnement.

TABLEAU I

Mortalités obtenues avec du blé à 0,0075 p. 100 de matière active

	Après 1 consommation	Après 3 consommations
Coumafène	$\frac{5}{20} = 0,25$	$\frac{5}{20} = 0,25$
Coumafuryl	$\frac{4}{20} = 0,20$	$\frac{15}{20} = 0,75$
Coumatétralyl	$\frac{2}{20} = 0,10$	$\frac{17}{20} = 0,85$
CPPH	$\frac{2}{20} = 0,10$	$\frac{7}{20} = 0,35$
Pivaldione	$\frac{2}{20} = 0,10$	$\frac{9}{20} = 0,45$
Diphacinone	$\frac{3}{20} = 0,20$	$\frac{15}{20} = 0,75$
Chlorophacinone	$\frac{318}{459} = 0,69$	$\frac{279}{289} = 0,97$

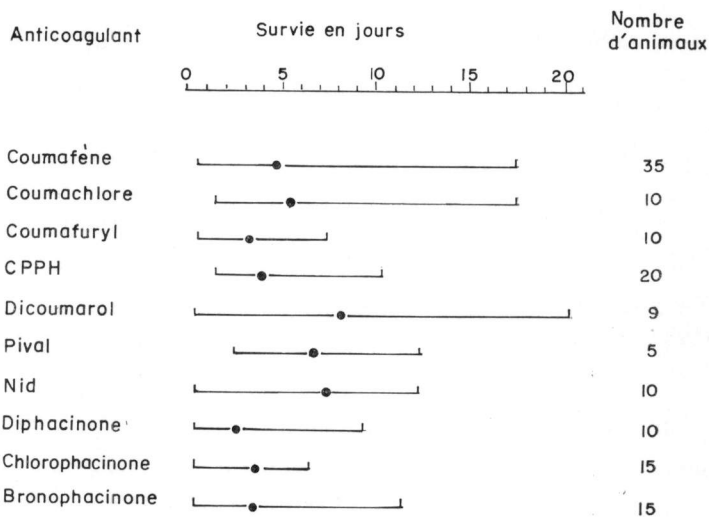


FIG. 1. — *Survie de Campagnols des champs recevant du blé à 0,025 p. 100 d'anticoagulant de façon continue*

L'analyse des résultats montre que les différences de mortalité observées entre une et trois consommations sont significatives (à un seuil de probabilité au plus égal à 5 p. 100) sauf pour le coumafène et le CPPH.

Il ressort de ce tableau que le chlorophacinone est le seul des sept anticoagulants essayés à assurer une mortalité élevée après une seule consommation d'appât à 0,0075 p. 100 de matière active : 69,2 p. 100, ainsi qu'une mortalité subtotale après trois consommations : 96,5 p. 100.

Le temps de survie, par contre, ne nous permet pas de conclusions. Nous pouvons définir ce temps de survie de la façon suivante : les observations étant faites toutes les 24 heures, on considère qu'une bête morte le 1^{er} jour a une survie de 0,5 jour, une morte le 2^e jour à une survie de 1,5 jour, ... une morte le n^{ème} jour a une survie de $n-0,5$ jour. Les mortalités observées avec une seule consommation sont en nombre trop faible pour que la comparaison avec celles observées dans le cas de trois consommations puisse nous permettre de dire si oui ou non il y a une différence significative entre les temps de survie respectifs.

2. — Analyse des résultats obtenus avec le chlorophacinone

Le nombre d'essais et d'animaux expérimentés avec cet anticoagulant est suffisamment élevé pour justifier une analyse statistique des résultats. Les conclusions principales de cette analyse sont les suivantes.

Différence entre sexes.

La différence de mortalité observée avec une seule consommation ($178:242 = 0,736$ pour les mâles contre $140:217 = 0,645$ pour les femelles) est significative au seuil de probabilité de 5 p. 100. Elle ne l'est pas avec trois consommations ($135:140 = 0,964$, contre $144:149 = 0,966$).

Délai de survie.

La quasi-totalité des morts observées (592 sur 597) se sont produites dans la période allant du 1^{er} au 8^e jour inclus. Les survies moyennes, avec leur intervalle de confiance au seuil de probabilité de 5 p. 100, ont été les suivantes :

	Mâles	Femelles
	—	—
1 consommation	$3,7 \pm 0,2$	$3,5 \pm 0,3$
3 consommations	$4,2 \pm 0,2$	$3,9 \pm 0,2$

La différence entre une et trois consommations est significative au seuil de 1 p. 100 pour les mâles et à celui de 5 p. 100 pour les femelles. Il y a donc une légère différence entre les deux sexes.

Corrélation entre les poids vifs et la survie.

Les animaux en expérience avaient un poids vif variant de 13 à 58 g pour les mâles et de 9 à 53 g pour les femelles : ils ont été regroupés en classes de 5 g. Les survies l'ont été en classes d'un jour. L'étude de la corrélation a alors été effectuée séparément pour les mâles et les femelles ainsi que pour une et trois consommations.

Les coefficients de corrélation trouvés ont été très faibles (0,17 à 0,28) et non distincts de zéro au seuil de probabilité de 5 p. 100. On peut donc considérer que le poids vif des individus n'influe pas sur la survie chez aucun des deux sexes.

3. — Influence de la concentration en matière active

On a voulu voir si en augmentant la concentration des appâts en matière active, on pouvait obtenir avec divers anticoagulants des mortalités comparables à celles observées avec le chlorophacinone (voir tabl. 2). Les résultats obtenus avec le coumafène, le coumafuryl et le pivaldione montrent qu'une augmentation du taux de matière active même très importante ($\times 4$ ou $\times 8$) n'entraîne celle des mortalités obtenues que de façon relativement faible.

TABLEAU 2

Variation de la mortalité en fonction de la teneur du blé en matière active

		P. 100 de matière active			
		0,0075	0,0250	0,0500	0,1000
Coumafène	$\times 1$	$\frac{5}{20} = 0,25$	$\frac{10}{40} = 0,25$	$\frac{3}{20} = 0,15$	$\frac{3}{20} = 0,15$
	$\times 3$	$\frac{5}{20} = 0,25$	$\frac{11}{20} = 0,55$	$\frac{7}{20} = 0,35$	$\frac{9}{20} = 0,45$
Coumafuryl	$\times 1$	$\frac{4}{20} = 0,20$	$\frac{2}{20} = 0,10$	$\frac{7}{20} = 0,35$	
	$\times 3$	$\frac{15}{20} = 0,75$	$\frac{12}{20} = 0,60$	$\frac{10}{20} = 0,50$	
Coumatétralyl	$\times 1$	$\frac{2}{20} = 0,10$	$\frac{8}{20} = 0,40$	$\frac{19}{20} = 0,95$	
	$\times 3$	$\frac{17}{20} = 0,85$	$\frac{12}{20} = 0,60$		
Pivaldione	$\times 1$	$\frac{2}{20} = 0,10$	$\frac{2}{20} = 0,10$		
	$\times 3$	$\frac{9}{20} = 0,45$	$\frac{10}{20} = 0,50$		

$\times 1$: une consommation.

$\times 3$: trois consommations.

Le délai maximal de survie observé avec un anticoagulant donné paraît plus élevé à faible qu'à forte concentration. Mais le nombre d'animaux morts est trop faible pour qu'on puisse affirmer ce fait et pour que l'analyse statistique conduise à une conclusion autre que la non signification des différences observées.

CONCLUSION

Au terme actuel de nos essais de laboratoire, au taux de 0,0075 p. 100, le chlorophacinone est le seul à assurer un pourcentage élevé de mortalité (70 p. 100 environ) à la suite d'une seule consommation et une mortalité subtotale (97 p. 100 environ) après 3 consommations.

La nécessité d'une répétition des ingestions au-delà de 3 consommations paraît nécessaire pour le coumafuryl, le coumatétralyl et le diphacinone, et bien plus encore pour le coumafène, le CPPH et le pivaldione. Ceci exclue la possibilité de leur emploi à cette concentration pour la destruction du Campagnol des champs, car une répétition des épandages de grains empoisonnés paraît inévitable avec ces substances.

Lorsqu'on augmente la concentration en matière active, la nécessité d'une répétition des ingestions au-delà de 3 fois, apparaît encore comme nécessaire pour le coumafène, le coumafuryl et le pivaldione. Seul le coumatétralyl a donné un résultat plus encourageant. Mais, il serait nécessaire, avant de conclure à son sujet, de procéder à de nouveaux essais sur un nombre plus important d'animaux.

Le chlorophacinone, employé sur blé au taux de 0,0075 p. 100, nous paraît être le seul des sept anticoagulants étudiés qui soit susceptible d'être utilisé actuellement pour la destruction du Campagnol des champs.

Reçu pour publication en janvier 1971.

SUMMARY

COMPARISON OF THE TOXICITY OF SOME ANTICOAGULANT RATICIDES WITH REGARD TO THE FIELD MOUSE : *MICROTUS ARVALIS* (PALLAS)

This work is a part of a study directed to replace zinc phosphide and crinidin by a less toxic product with regard to game, in the control of the field mouse.

Preliminary tests, realized according to the method of continuous poisoning were rapidly leave, results not allowing to differentiate the different anticoagulants (see fig. 1).

Following tests were realized on reared animals according to the commended method by O. E. M. P. P., the principal criterion being mortality obtained when consumption are limited to one or three. On the whole 1 400 *Microtus arvalis* where intoxicated by means of 7 different products (4 from hydroxy-coumarin and 3 from indanedione) 748 of them being with only chlorophacinon. A first test series comparing these 7 substances at the same dose rate 0.007 5 p. 100 have shown that only chlorophacinon is able to insure high mortality (about 70 p. 100) after a single consumption and subtotal mortality (about 97 p. 100) after three consumptions (see table 1). A second test series, realized with four of the other products have shown that for one and 3 consumptions, increase of the toxic concentration (x_4 and x_8) augment mortalities only of a relatively light quantity and nevertheless not sufficient to consider their utilization in the control of the field mouse (see table 2).

Chlorophacinon appears to day as the single anticoagulant substance utilisable for the control of *Microtus arvalis*.

ANNEXE

LISTE ALPHABÉTIQUE DES SUBSTANCES
ANTICOAGULANTES EXPÉRIMENTÉES*Bromophacinone :*

(*p*-bromophényl- 2 phényl- 2 acétyl)- 2 indanedione- 1,3.

Chlorophacinone :

(*p*-chlorophényl-2 phényl-2 acétyl)-2 indanedione-1,3.

Coumachlore :

hydroxy-4 (oxo-3 *p*-chlorophényl-1 butyl)-3 coumarine.

Coumafène : (warfarin).

hydroxy-4 (oxo-3 phényl-1 butyl)-3 coumarine.

Coumafuryl :

(α -acétonyl furfuryl)-3 hydroxy-4 coumarine.

Coumatetralyl :

hydroxy-4 (tétrahydro-1, 2, 3, 4 naphtyl)-3 coumarine.

CPPH :

hydroxy-4 (oxo-3 *p*-chlorophényl-1 propyl)-3 coumarine.

Dicoumarol :

méthylène 3,3'-bis (hydroxy-4 coumarine).

Diphacinone :

diphénylacétyl-2 indanedione 1,3.

NID :

naphtyl-2 indanedione 1,3.

Pivaldione :

pivaloyl-2 indanedione 1,3.

UTILISATION D'UN COMPTEUR DE PASSAGE A LA GUEULE DES TERRIERS DU RAT MUSQUÉ *ONDATRA ZIBETHICA* (L.)

J.-P. VINCENT

*Laboratoire des Petits Vertébrés
Centre national de Recherches zootechniques, I. N. R. A.,
78 - Jouy-en-Josas*

Le dénombrement d'une population de rats musqués n'est pas chose facile, aussi bien en étang qu'en rivière ou en marais. Les procédés classiques d'échantillonnage utilisés pour les autres mammifères s'appliquent difficilement à l'Ondatra, en raison de la variété des biotopes colonisés et de la difficulté de capture et recapture.

Dans bien des cas, un dénombrement absolu n'est pas nécessaire ; un indice, pourvu qu'il soit représentatif, peut suffire pour connaître les variations d'une population donnée.

C'est dans le but d'utiliser la plus ou moins grande fréquentation du terrier comme indice d'abondance du Rat musqué que nous avons expérimenté le compteur de passage.

MATÉRIEL UTILISÉ

L'appareil utilisé se compose de 3 parties :

- 1° le compteur ;
- 2° le portique ;
- 3° le contacteur.

1. — *Le compteur*

Un petit compteur téléphonique totalisateur alimenté par une pile de 9 volts est placé dans une petite boîte en matière plastique. La pile charge un condensateur par l'intermédiaire d'une résistance (constante de temps de 1 à 2 secondes). En se déchargeant le condensateur provoque l'avancée du compteur d'une unité. Deux fiches femelles fixées sur les parois de la boîte permettent de relier le contacteur au compteur (voir le schéma de la fig. 1).

2. — *Le portique*

Fait d'une barre d'acier de 4 mm de diamètre il supporte un petit balancier lesté pivotant autour de la partie horizontale. Deux bagues de laiton soudées servent de cale et de support au

contacteur. A la partie supérieure du balancier, au-dessus de l'axe, est fixé un petit aimant cylindrique de 3 cm de long (voir la fig. 3).

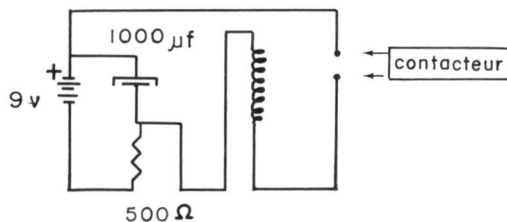


FIG. 1. — Schéma d'un compteur

3. — Le contacteur

Cette partie est composée de deux contacts magnétiques fixés sur une plaque de plexiglas. Elle est elle-même vissée sur un petit bloc de même matière que l'on fixe sur une bague de calage à proximité de l'aimant. Le plan de déplacement du balancier est parallèle à celui de la plaque de plexiglas.

Un câble à deux fils est soudé aux contacts et va se brancher sur le compteur au moyen de deux fiches mâles. Une pâte isolante à base de résine et de colophane recouvre les contacts et les soudures afin de permettre l'immersion totale de l'ensemble (voir fig. 2 et 3).

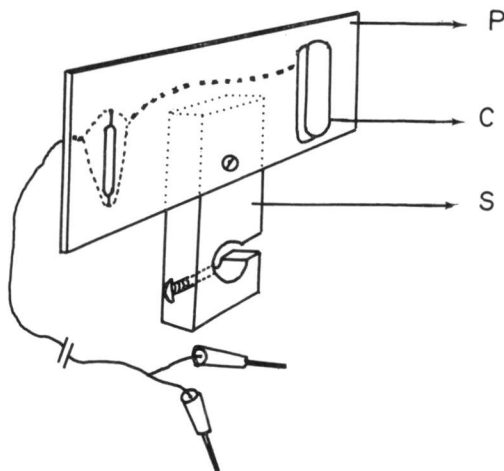


FIG. 2. — Schéma d'un contacteur

P = plexiglas 10 × 5 cm, $e = 0,3$ cm

C = contact + résine isolante

S = support plexiglas 5 × 3 cm, $e = 1,5$ cm

Le portique est enfoncé dans le sol, à la gueule d'un terrier, de façon que le balancier puisse jouer et se trouver à environ 4 doigts du fond. Le compteur est posé sur la berge et dissimulé sous des herbes.

Lorsqu'un animal sort du terrier ou y rentre, le mouvement du balancier qu'il pousse déclenche, grâce à l'aimant, la fermeture d'un contact et le compteur avance d'une unité.

Ce même matériel couplé à un enregistreur nous a permis de suivre le rythme de fréquentation du terrier par le Rat musqué.

L'enregistreur se compose d'un moteur mécanique entraînant, au moyen d'un galet, un plateau de tourne-disque. L'épaisseur du plateau est portée à 2,5 cm au moyen d'un disque de plexi-

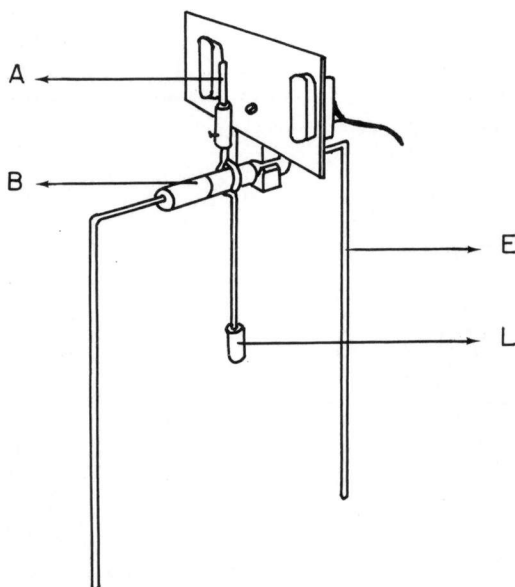


FIG. 3. — Schéma d'un contacteur en place

A = aimant ; B = bague de calage cuivre 100 mm ;
E = barre acier 4 mm ; L = lest du balancier (plomb)

glas fixé dessus. L'inscription est réalisée sur une bande de papier baryté fixée verticalement sur le champ du plateau. Deux stylets inscripteurs solidaires de deux relais couplés au contacteur enregistrent séparément les entrées et les sorties. Un compteur téléphonique repère également le nombre des mouvements. L'ensemble est contenu dans une boîte que l'on peut relier au contacteur par un câble d'une dizaine de mètres. La vitesse de déroulement (réglée par la dimension du galet d'entraînement) était de 3,1 cm/h.

EXPÉRIMENTATION

Le premier essai tenté a été effectué le long d'une petite rivière d'Yvelines ; il avait pour but de suivre l'évolution du nombre de contacts journaliers pour deux groupes de terriers. Le groupe n° 1 comprenait 5 gueules et le groupe n° 2 comprenait 6 gueules. Chaque groupe semblait occupé par une famille. Les compteurs furent laissés en place pour une durée d'environ 1 mois.

Dans le 2^e essai effectué dans les près salés de la baie de Somme, nous avons étudié l'effet d'une baisse de la population de rats sur l'évolution du nombre des contacts. Nous avons opéré sur deux mares d'environ 8 à 10 ares, fermées et relativement isolées. Nous avons choisi une période de 3 à 4 jours pour l'enregistrement avant et après la chute de la population. Un piégeage exhaustif final sur chaque mare nous donnait le niveau de la population.

RÉSULTATS

On note que le dispositif expérimental ne gêne apparemment pas le Rat musqué dans ses activités. Il n'y a pas d'abandons systématiques de terriers.

L'extrême variabilité de l'indice d'activité est remarquable; même en groupant les données pour chaque terrier; la variabilité ne disparaît pas. Il semble donc difficile de caractériser un ou plusieurs terriers par une valeur moyenne de l'indice. Dans le cas du groupe de terriers n° 1 on peut voir se dessiner à partir du 27 une légère baisse du niveau de l'indice d'activité (voir fig. 4).

Les résultats du 2^e essai sont présentés dans les tableaux 1 et 2 illustrés par la figure 5.

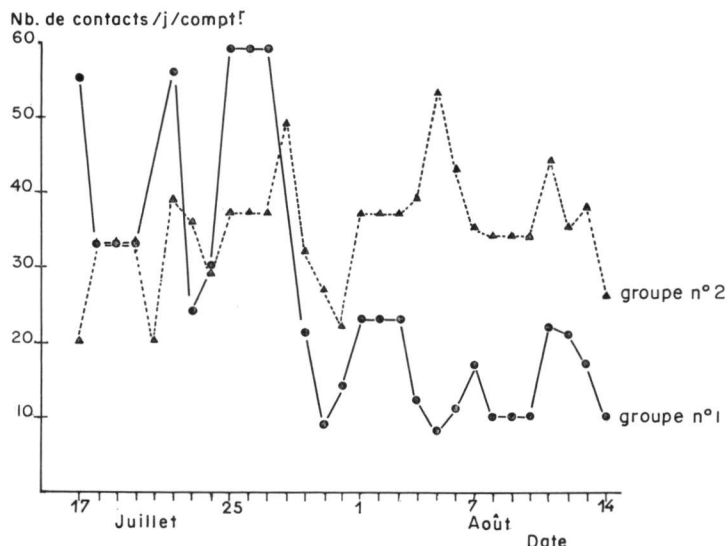


FIG. 4. — Variations journalières des contacts enregistrés dans deux groupes de terriers

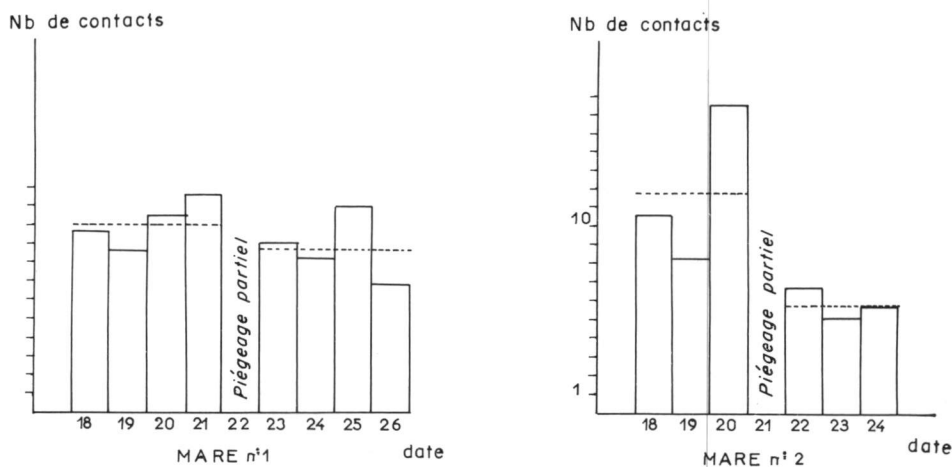


FIG. 5. — Évolution du nombre de contacts par jour et par compteur pour deux mares

Sur les deux mares, la baisse du niveau de population à la suite du piégeage partiel, a eu pour effet une baisse de l'indice d'activité de 18,5 p. 100 sur la mare n° 1 et de 50,3 p. 100 sur la mare n° 2. Ces chiffres ne sont pas proportionnels au taux de chute de la population qui se situe à 36 p. 100 pour la mare n° 1 et à 18 p. 100 pour la mare n° 2. Il semble donc que la relation entre l'indice d'activité et le nombre de rats musqués ne soit pas simple. Ceci élimine donc la possibilité de suivre des variations de niveau de population d'après les variations de l'indice d'activité.

TABLEAU I

Évolution du nombre de contacts par jours et par compteurs pour 2 mares

Date	Mare n° 1 8 compteurs	Mare n° 2 7 compteurs
18	9,6	10,6
19	8,6	8,3
20	10,4	16,6
21	11,6	Piégeage partiel 4 rats
Moyenne	10,0	11,8
22	Piégeage partiel 44 rats	6,7
23	9,0	5,1
24	8,2	5,7
25	11,0	—
26	6,8	—
Moyenne	8,7	5,8
Nombre total de rats capturés	11	22

TABLEAU 2

Comparaison des variations de l'indice d'activité et du niveau de population

	Mare n° 1	Mare n° 2
Baisse de l'indice d'activité (%)..	18,3	50,3
Baisse de la population après piégeage partiel (%)	36,3	18,0

Cela ne surprend pas si l'on songe que, selon les époques de l'année, les rats musqués sont plus ou moins actifs ; peu de rats pouvant être très actifs ou au contraire beaucoup de rats peu actifs et inversement.

L'utilisation des compteurs de passage à l'entrée du terrier ne fournit donc qu'un indice de la présence et de l'activité de rats musqués, sans que l'on puisse préjuger de leur nombre.

Les renseignements peuvent être intéressants si l'on veut suivre l'occupation progressive d'un terrier donné ou son abandon par les rats.

Reçu pour publication en décembre 1970.

REMERCIEMENTS

Nous remercions M. le Professeur CHAUVIN pour l'accueil qu'il nous a réservé dans l'enceinte de sa propriété où une partie des essais furent effectués. Nous remercions également M. BRIEU et M. AUBRY pour leur collaboration à la réalisation du matériel utilisé, ainsi que M. CRIMET, S. POULAIN et M. POULAIN pour leur aide lors des essais sur le terrain.

CHRONIQUE DES LIVRES

TOMBES (A. S.). — INTRODUCTION TO INVERTEBRATE ENDOCRINOLOGY. — New York, Londres, Academic Press, 1970, 217 p.

Cet ouvrage délimite en termes très généraux la structure, la fonction et le mécanisme des systèmes endocriniens des invertébrés.

Du point de vue histologique et fonction, les cellules neurosécrétrices sont tout à fait semblables, des hydres aux insectes. L'étude phylum par phylum a pour but d'aider à dégager la signification phylogénétique de ces cellules neurosécrétrices.

Deux divisions majeures apparaissent : les deux premiers chapitres traitent du mécanisme général et de la structure du système endocrinien.

La deuxième partie, des chapitres 3 à 11, est une discussion sur les systèmes endocriniens de sept phyla ; les quatre premiers : Cnidaire, Plathelminthes, Nemertes, Nématodes, peuvent être considérés comme des groupes mineurs, alors que les Mollusques, Annelides et Arthropodes constituent les groupes majeurs.

Comme la cellule neurosécrétrice est l'élément endocrinien dominant des invertébrés, une discussion limitée à la morphologie du système nerveux est nécessaire. Une étude des processus physiologiques : reproduction, croissance, développement, régulation osmotique et leur rapport avec la fonction endocrinienne suit la présentation morphologique.

De nombreux dessins et photographies illustrent le texte.

M. F.

WOOD (D. L.), SILVERSTEIN (R. M.), NAKAJIMA (M.). — CONTROL OF INSECT BEHAVIOR BY NATURAL PRODUCTS. — New York, London, Academic Press, 1970, 345 p.

Cet ouvrage est le compte rendu du 3^e séminaire sur le contrôle des déprédateurs à l'aide de méthodes biochimiques. Cette réunion qui s'est tenue à Honolulu (Hawaï), en janvier 1968, était organisée, comme les deux précédentes, par la Fondation nationale américaine des sciences et la Société japonaise pour la promotion de la science.

Au cours de ce séminaire se sont trouvés réunis 20 biologistes et chimistes qui ont exposé leurs travaux concernant l'identification de substances naturelles ayant une activité sur le comportement des insectes. Les thèmes de la réunion ont été les suivants : comportement chimico-sensoriel, électrophysiologie, isolement, identification et synthèses de nouveaux composés ; application à la lutte contre les déprédateurs.

J. L.

CROLL (N. A.). — THE BEHAVIOUR OF NEMATODES, THEIR ACTIVITY, SENSES AND RESPONSES. — Edward Arnold Ltd, London, 1970, 117 p.

Le comportement des nématodes a été très étudié au cours de ces dernières années et de nombreuses informations sont diffusées à travers la littérature des nématologistes et parasitologistes.

L'intérêt de cet ouvrage est de faire le point des connaissances actuelles et de grouper les travaux effectués sur les nématodes libres et sur les nématodes parasites d'animaux ou de végétaux.

Les autres chapitres de l'ouvrage abordent les différents aspects du comportement des nématodes : déplacement, activité, agrégation, sensibilité à la lumière, à la température et aux substances chimiques, réponses aux champs électriques et magnétiques, aux stimuli mécaniques, migrations verticales et mécanisme de l'orientation.

L'ouvrage est complété par une liste bibliographique, un index des nématodes cités et un index sujet.

M. F.

INFORMATIONS

JOURNÉES FRANÇAISES D'ÉTUDES ET D'INFORMATION SUR LES NÉMATODES

L'Association de coordination technique agricole (A. C. T. A.) et la Fédération nationale des groupements de protection des cultures (F. N. G. P. C.) organisent les 3, 4 et 5 novembre 1971 des journées d'étude et d'information consacrées aux Nématodes.

Cette manifestation est le résultat d'une étroite collaboration entre le Ministère de l'Agriculture, les industries de la Phytopharmacie et les Organisations professionnelles agricoles.

Durant ces journées, le point sera fait sur l'ensemble de nos connaissances en nématologie, ce domaine de la protection des cultures ayant considérablement progressé ces dernières années.

Les principaux sujets abordés seront :

- les grandes lignes de la classification et les problèmes nématologiques dans l'Agriculture de demain ;
- les nématodes vecteurs de virus ;
- mise en évidence des nématodes et intérêt de l'analyse nématologique ;
- les nématodes en grande culture, en cultures maraîchères, fruitières et florales ;
- les nématicides ;
- les techniques d'application et leurs conséquences sur l'équilibre biologique des sols ;
- la législation phytosanitaire et les nématodes.

Pour les inscriptions et renseignements :

A. C. T. A. — F. N. G. P. C.

18, rue de l'Arcade, 75 - Paris 8^e

CONTENTS

J. BONFILS, A. DELPLANQUE. — Distribution of the principal leafhoppers in the French West Indies meadows (<i>Homoptera</i>)	135
B. HURPIN. — Resistance ability and virulence conservation of <i>Rickettsiella melolonthae</i> ...	151
J.-C. ONILLON, J. ONILLON, R. TOMASSONE. — Contribution to the study of the population dynamics of <i>Citrus homoptera</i> . I. — Estimation of a leaf area in respect to its two larger dimensions	183
M. BOULÉTREAU. — Respiratory metabolism of <i>Pteromalus puparum</i> (Hym. Chalc.) during preimaginal development and influence of larval crowding	195
E. FYTIZAS, B. MAZOMENOS. — Temperature and light influences on sterilant efficacy of Tepa on <i>Dacus oleae</i> GMEL. females	209
E. FYTIZAS, B. MAZOMENOS. — Development in olives of <i>Dacus oleae</i> larvae coming from parents reared at larval stage, on artificial diet substrat	217
J. BORDON. — Physiology of reproduction and development aspects in <i>Oscinella pusilla</i> MEIG. (Dipt. <i>Chloropidae</i>)	225
A. BOURNIER, P. BERNAUX. — <i>Haplothrips tritici</i> KURDJ. and <i>Limothrips cerealium</i> HAL. like agents of hard wheats spot.....	247
G. GROLLEAU. — Comparison of the toxicity of some anticoagulant raticides with regard to the field mouse, <i>Microtus arvalis</i> (PALLAS)	261
J.-P. VINCENT. — Utilization of a passage-checker placed at the entrance of <i>Ondatra zibethica</i> L. holes	269
Book reviews	275
Information	277

RECOMMANDATIONS AUX AUTEURS

Le manuscrit doit être dactylographié sur papier format 21 × 27, avec un double interligne, au recto seulement. Chaque page sera numérotée et des feuilles séparées seront utilisées pour les références bibliographiques, les tableaux, les légendes des figures et graphiques, etc.

Au début de chaque mémoire, on indiquera : — le titre du mémoire : il ne devra pas comporter d'abréviations ni de formules chimiques (sauf pour les isotopes) ; — le nom des auteurs, précédé des initiales du prénom pour les hommes, du prénom complet pour les femmes ; — le nom des techniciens ayant collaboré à l'étude relatée, précédé de la mention : avec la collaboration technique de... ; — le nom de l'établissement, dans lequel ont été effectuées les recherches et son adresse.

Les mémoires seront rédigés, autant que possible, d'après le plan ci-dessous :

a) *résumé* : (250 mots max.) suffisamment précis pour que sa lecture renseigne sur la nature du travail et son importance ; b) *introduction* dans laquelle on indique l'objet des recherches entreprises en relation avec les travaux déjà effectués dans le domaine ; c) *techniques expérimentales et matériel utilisé*, en donnant, sous une forme concise, tous les détails nécessaires pour que le lecteur puisse répéter les expériences ; d) *résultats*, à présenter de la manière la plus brève possible ; e) *discussion et conclusions* ; f) *résumé* anglais ou destiné à être traduit en anglais comportant une analyse complète de l'article ; g) *remerciements* pour les collaborateurs, les fonds, les dons... ; h) *références bibliographiques*.

Les travaux originaux en anglais doivent présenter la même composition que les mémoires rédigés en français, mais ils comportent obligatoirement un résumé français très complet. Les figures, graphiques, tableaux et photographies seront sous-titrés en français.

Pour les autres documents (notes, mises au point, revues, rapports, etc.) l'auteur devra suivre un plan logique et le mettre en évidence par une titration appropriée.

Les références bibliographiques doivent être citées dans le texte de la manière suivante : (DUPONT et DUVAL, 1954). Lorsque la référence comporte plus de trois auteurs, seul le premier auteur sera mentionné, suivi de *et al.* A la fin de l'article, les références constituant la bibliographie doivent être citées par ordre alphabétique des noms d'auteurs, et par ordre de dates pour un même auteur.

Pour les articles : le (s) nom (s) de (s) auteur (s) suivi (s) des initiales du (des) prénom (s) ; la date de parution de l'article ; le titre de l'article (dans la langue originale pour l'allemand, l'anglais, l'italien, l'espagnol et en français dans tous les autres cas, avec indication entre parenthèses de la langue d'origine, sauf si l'auteur étranger a sous-titré dans l'une des quatre langues mentionnées) ; le titre du périodique en abrégé, selon la *World List of Scientific Periodicals*, ou le *Bulletin Signalétique du C. N. R. S.* ; le volume ; la première et la dernière page de l'article.

Pour les ouvrages : le nom de l'auteur avec les initiales du prénom ; la date de l'édition ; le titre complet de l'ouvrage dans la langue originale, sans abréviations (pour les langues utilisant des alphabets autres que l'alphabet latin, la traduction du titre sera donnée entre parenthèses, avec mention de la langue d'origine) ; le volume ; la première et la dernière page du paragraphe se rapportant aux résultats discutés, et, si l'on cite l'ouvrage en entier, le nombre de volumes et le nombre total de pages ; le numéro de l'édition s'il y en a plusieurs ; le nom de l'éditeur ; le lieu de l'édition. Si l'ouvrage est collectif, on indiquera en plus le nom de l'auteur du chapitre cité, le nom des rédacteurs principaux, précédé de la mention « in », le titre de l'ouvrage.

La mention de « communications personnelles » ou « données non publiées » etc. doit être faite entre parenthèses. Lorsque l'auteur a relevé une référence dans une revue d'« Abstracts », le mentionner à la fin de la référence, entre parenthèses.

Les tableaux, dessins, graphiques, cartes, photographies, doivent être fournis à part. Les tableaux et figures doivent faire l'objet de deux numérotations distinctes, en chiffres arabes l'une et l'autre.

Les auteurs peuvent disposer leurs tableaux soit dans le sens de la largeur de la revue, soit dans le sens de la longueur. Dans le sens de la largeur, le total des signes et des espaces disponibles est de 100. Dans le sens de la longueur, il est de 155. Les tableaux en longueur, c'est-à-dire ceux pouvant disposer de 155 signes, ne seront admis que s'ils comprennent plus de 8 lignes de chiffres, de manière qu'une page entière de la revue ne soit pas occupée par un tableau très long et très étroit. Les graphiques ne doivent pas faire double emploi avec les tableaux.

Les légendes et les énoncés des graphiques et dessins doivent être dactylographiés sur feuille séparée et porter les numéros des figures.

Les graphiques, schémas, cartes, dessins d'appareils seront envoyés à l'état de projets, leur exécution définitive étant confiée au Bureau de Dessin de l'I. N. R. A. Seules deux réductions à l'impression sont admises : soit × 0,5, soit × 0,25.

Il est rappelé que le format utile des *Annales* est : 19 × 12,5 cm ; ces dimensions ne doivent pas être dépassées.

Photographies : Il est recommandé de fournir des épreuves bien contrastées sur papier blanc, et de préférence en format 9 × 12. Si les photographies doivent être associées pour constituer des planches, on adoptera les normes suivantes : 2 photos 9 × 12, 4 photos 9 × 5,5, 6 photos 5,5 × 5,5. Dans ce cas, chaque photo devra porter un numéro en chiffres arabes visible après clichage.

Les légendes des photographies doivent être dactylographiés sur feuilles séparées et porter les numéros des figures.

Correction des épreuves : les auteurs recevront une épreuve à corriger.

Envoi du manuscrit : M. BILLOTTI, Centre national de Recherches agronomiques, 78 - Versailles, France. On demande deux exemplaires.

ZOOLOGIE.

Le directeur de la publication: M.-L. CAGNAC

Imprimerie Bussière à Saint-Amand (Cher), France. — 9-1971

Dépôt légal: 3^e trimestre 1971. N° d'impression: 897.

INSTITUT NATIONAL DE LA RECHERCHE AGRONOMIQUE

PÉRIODIQUES

TARIF DES ABONNEMENTS POUR 1971	France	Étranger	Le N°
ANNALES AGRONOMIQUES, 6 n° par an	125 F	135 F	25 F
ANNALES DE L'AMÉLIORATION DES PLANTES, 4 n° par an	100 F	110 F	35 F
ANNALES DE PHYTOPATHOLOGIE, 4 n° par an	100 F	110 F	35 F
ANNALES DE ZOOLOGIE - ÉCOLOGIE ANIMALE, 4 n° par an	100 F	110 F	35 F
ANNALES DE ZOOTECHNIE, 4 n° par an	100 F	110 F	35 F
ANNALES DE TECHNOLOGIE AGRICOLE, 4 n° par an	100 F	110 F	35 F
ANNALES DE BIOLOGIE ANIMALE, BIOCHIMIE, BIOPHYSIQUE, 4 n° par an	100 F	110 F	35 F
ANNALES DES SCIENCES FORESTIÈRES, 4 n° par an	75 F	80 F	25 F
ANNALES DE GÉNÉTIQUE ET DE SÉLECTION ANIMALE, 4 n° par an	100 F	110 F	35 F
ANNALES DE RECHERCHES VÉTÉRINAIRES, 2 n° par an	50 F	55 F	35 F
ANNALES D'HYDROBIOLOGIE, 2 n° par an	50 F	55 F	35 F
ANNALES D'ÉCONOMIE ET DE SOCIOLOGIE RURALES, 2 n° par an	40 F	44 F	20 F

APIDOLOGIE, 4 n° par an — Abonnement : France : 30 F
 Étranger sauf R. F. A. : 35 F
 — Le numéro : France : 9 F
 Étranger sauf R. F. A. : 10 F

PUBLICATIONS NON PÉRIODIQUES

Prix T. T. C.

Recherches d'économie et de sociologie rurales :

N° 1; n° 2; n° 3; n° 4; le numéro : 10,77 F
 Souscription pour les 4 premiers numéros : 33,66 F

Recherches vétérinaires :

N° 1; n° 2; n° 3; le numéro : 21,45 F

Recherches d'hydrobiologie continentale :

Le n° 1 : 16,12 F

DERNIERS OUVRAGES PARUS

Les maladies des plantes - Modes de développement et méthodes de lutte. Traduit de l'anglais par J. Louvet.

236 p., 1971 43,00 F

Les maladies des plantes maraîchères par C.-M. Messiaen et R. Lafon. 2^e édition mise à jour.

441 p., 1971 64,50 F

Techniques d'étude des facteurs physiques de la Biosphère.

544 p., 1970 86,00 F

Comptes-rendus de la 4^e Conférence trisannuelle de l'Association européenne pour la Recherche sur la pomme de terre, Brest, 8-13 Septembre 1969.

298 p., 1970 48,37 F

Colloque franco-soviétique sur l'utilisation des entomophages, Antibes, Mai 1968.

134 p., 1970 35,00 F

Symposium sur la physiologie de la coquille de l'œuf.

280 p., 1970 70,00 F

Carte pédologique de France au 1/100.000. Vichy — L 15 et notice explicative par J.-C. Favrot.

160 p., 1970 53,75 F

Recherches sur l'induction expérimentale de naissances gémeillaires chez les bovins.

157 p., 1970 40,00 F

Essai de classification et de nomenclature des virus, par H. Lapierre et D. Spire.

110 p., 1969 35,00 F

Deuxième Congrès de l'Union phytopathologique méditerranéenne, Avignon-Antibes, 21-27 septembre 1969.

470 p., 1969 90,00 F

Les demandes d'abonnements et les commandes doivent être adressées au Service des Publications de l'Institut national de la Recherche agronomique, route de Saint-Cyr, 78 - Versailles.
 Règlement : par chèque bancaire à l'ordre du Régisseur des Publications de l'I. N. R. A., par virement postal à son compte courant : 9064-43 Paris, sans mentionner d'adresse, ou par bons U. N. E. S. C. O.
 Les demandes peuvent être souscrites également par l'intermédiaire des libraires dans les conditions habituelles.

TABLE DES MATIÈRES

J. BONFILS, A. DELPLANQUE. — Distribution des principales cicadelles des prairies aux Antilles françaises (<i>Homoptera</i>)	135
B. HURPIN. — Facultés de résistance et conservation de la virulence de <i>Rickettsiella melolonthae</i> , agent de la rickettsiose des larves de <i>Melolontha</i> sp. (Coléoptères <i>Scarabaeidae</i>).	151
J.-C. ONILLON, J. ONILLON, R. TOMASSONE. — Contribution à l'étude de la dynamique des populations d'homoptères inféodés aux agrumes. I. — Estimation de la surface d'une feuille en fonction de ses deux plus grandes dimensions	183
M. BOULÉTREAU. — Métabolisme respiratoire de <i>Pteromalus puparum</i> (Hym. Chalc.) au cours du développement et influence de la densité de population larvaire	195
E. FYTIZAS, B. MAZOMENOS. — Influence de la température et de la lumière sur l'efficacité stérilisante du Tapa sur les femelles de <i>Dacus oleae</i> GMEL.	209
E. FYTIZAS, B. MAZOMENOS. — Développement dans les olives des larves de <i>Dacus oleae</i> issues de parents élevés au stade larvaire sur un substrat nutritif artificiel	217
J. BORDON. — Aspects de la physiologie de la reproduction et du développement chez <i>Oscinella pusilla</i> MEIG. (Dipt. <i>Chloropidae</i>)	225
A. BOURNIER, P. BERNAUX. — <i>Haplothrips tritici</i> KURDJ. et <i>Limothrips cerealium</i> HAL. agents de la moucheture des blés durs	247
G. GROLLEAU. — Comparaison de la toxicité de divers raticides anticoagulants à l'égard du campagnol des champs, <i>Microtus arvalis</i> (PALLAS)	261
J.-P. VINCENT. — Utilisation d'un compteur de passage à la gueule des terriers du Rat musqué <i>Ondatra zibethica</i> (L.)	269
Chronique des livres	275
Informations	277

Contents, see page 279

Les Annales de Zoologie-Écologie animale figurent dans Current Contents